

15.7.2004

日本国特許庁

JAPAN PATENT OFFICE

REC'D 02 SEP 2004

WIPO PCT

別紙添付の書類は下記の出願書類の謄本に相違ないことを証明する。
 This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed
 with this Office.

出願年月日 Date of Application: 2003年 7月 9日

出願番号 Application Number: PCT/JP03/08740

出願人 Applicant(s):

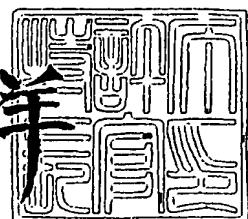
アンジェス エムジー株式会社
 森下 竜一
 青木 元邦
 荻原 俊男
 川崎 富夫
 牧野 寛史

PRIORITY
DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1 (a) OR (b)

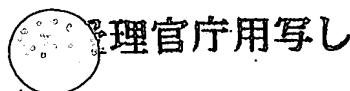
2004年8月19日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小川



出証平 16-500327



特許協力条約に基づく国際出願願書

原本(出願用) - 印刷日時 2003年07月08日 (08.07.2003) 火曜日 17時49分38秒

AN011PCT

1/5

0	受理官庁記入欄 国際出願番号	PCT/JP03/08740
0-2	国際出願日	09.07.03
0-3	(受付印)	PCT International Application 日本特許庁
0-4	様式-PCT/R0/101 この特許協力条約に基づく国際出願願書は、右記によって作成された。	PCT-EASY Version 2.92 (updated 01.04.2003)
0-5	申立て 出願人は、この国際出願が特許協力条約に従って処理されることを請求する。	
0-6	出願人によって指定された受理官庁	日本国特許庁 (R0/JP)
0-7	出願人又は代理人の書類記号	AN011PCT
I	発明の名称	デコイを含む美学的組成物およびその使用方法
II	出願人 II-1 II-2 II-4Ja II-4en II-5Ja II-5en II-6 II-7 II-8	出願人である (applicant only) 米国を除くすべての指定国 (all designated States except US) 名称 Name あて名: Address: 国籍 (国名) 住所 (国名) 電話番号
III-1	その他の出願人又は発明者 III-1-1 III-1-2 III-1-4Ja III-1-4en III-1-5Ja III-1-5en	出願人及び発明者である (applicant and inventor) 米国のみ (US only) 氏名 (姓名) Name (LAST, First) あて名: Address:
III-1-6 III-1-7	国籍 (国名) 住所 (国名)	日本国 JP 日本国 JP 06-4863-9545

特許協力条約に基づく国際出願願書

原本（出願用）- 印刷日時 2003年07月08日 (08.07.2003) 火曜日 17時49分38秒

AN011PCT

III-2 III-2-1	その他の出願人又は発明者 この欄に記載した者は	出願人及び発明者である (applicant and inventor) 米国のみ (US only)
III-2-2 III-2-4 a III-2-4e n III-2-5 a	右の指定国についての出願人である。 氏名(姓名) Name (LAST, First) あて名:	青木 元邦 AOKI, Motokuni 560-0082 日本国 大阪府 豊中市 新千里東町一丁目4番2号 アンジェス エムジー株式会社内 c/o AnGes MG, Inc. 4-2, Shinsenrihigashimachi 1-chome Toyonaka-shi, Osaka 560-0082 Japan
III-2-5e n	Address:	
III-2-6 III-2-7	国籍(国名) 住所(国名)	日本国 JP 日本国 JP
III-3 III-3-1	その他の出願人又は発明者 この欄に記載した者は	出願人及び発明者である (applicant and inventor) 米国のみ (US only)
III-3-2 III-3-4 a III-3-4e n III-3-5 a	右の指定国についての出願人である。 氏名(姓名) Name (LAST, First) あて名:	荻原 優男 OGIHARA, Toshio 560-0082 日本国 大阪府 豊中市 新千里東町一丁目4番2号 アンジェス エムジー株式会社内 c/o AnGes MG, Inc. 4-2, Shinsenrihigashimachi 1-chome Toyonaka-shi, Osaka 560-0082 Japan
III-3-5e n	Address:	
III-3-6 III-3-7	国籍(国名) 住所(国名)	日本国 JP 日本国 JP
III-4 III-4-1	その他の出願人又は発明者 この欄に記載した者は	出願人及び発明者である (applicant and inventor) 米国のみ (US only)
III-4-2 III-4-4 a III-4-4e n III-4-5 a	右の指定国についての出願人である。 氏名(姓名) Name (LAST, First) あて名:	川崎 富夫 KAWASAKI, Tomio 560-0082 日本国 大阪府 豊中市 新千里東町一丁目4番2号 アンジェス エムジー株式会社内 c/o AnGes MG, Inc. 4-2, Shinsenrihigashimachi 1-chome Toyonaka-shi, Osaka 560-0082 Japan
III-4-5e n	Address:	
III-4-6 III-4-7	国籍(国名) 住所(国名)	日本国 JP 日本国 JP

III-5 III-5-1 III-5-2 III-5-4j a III-5-4e n III-5-5j a	その他の出願人又は発明者 この欄に記載した者は 右の指定国についての出願人である。 氏名(姓名) Name (LAST, First) あて名:	出願人及び発明者である (applicant and inventor) 米国のみ (US only) 牧野 寛史 MAKINO, Hirofumi 560-0082 日本国 大阪府 豊中市 新千里東町一丁目4番2号 アンジェス エムジー株式会社内 c/o AnGes MG, Inc. 4-2, Shinsenrihigashimachi 1-chome Toyonaka-shi, Osaka 560-0082 Japan
III-5-5e n	Address:	
III-5-6 III-5-7	国籍(国名) 住所(国名)	日本国 JP 日本国 JP
IV-1	代理人又は共通の代表者、通知のあて名 下記の者は国際機関において右記のごとく出願人のために行動する。 氏名(姓名) Name (LAST, First) あて名:	代理人 (agent) 山本 秀策 YAMAMOTO, Shusaku 540-6015 日本国 大阪府 大阪市 中央区城見一丁目2番27号 クリスタルタワー15階 Fifteenth Floor, Crystal Tower, 2-27, Shiromi 1-chome, Chuo-ku Osaka-shi, Osaka 540-6015 Japan 06-6949-3910 06-6949-3915
IV-1-2en	Address:	
IV-1-3 IV-1-4	電話番号 ファクシミリ番号	
IV-2	その他の代理人	筆頭代理人と同じあて名を有する代理人 (additional agent(s) with same address as first named agent) 安村 高明; 森下 夏樹 YASUMURA, Takaaki; MORISHITA, Natsuki
IV-2-1ja IV-2-1en	氏名 Name (s)	
V-1	国指定 広域特許 (他の種類の保護又は取扱いを求める場合には括弧内に記載する。)	AP: GH GM KE LS MW MZ SD SL SZ TZ UG ZM ZW 及びハラレプロトコルと特許協力条約の締約国である他の国 EA: AM AZ BY KG KZ MD RU TJ TM 及びユーラシア特許条約と特許協力条約の締約国である他の国 EP: AT BE BG CH&LI CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HU IE IT LU MC NL PT RO SE SI SK TR 及びヨーロッパ特許条約と特許協力条約の締約国である他の国 OA: BF BJ CF CG CI CM GA GN GQ GW ML MR NE SN TD TG 及びアフリカ知的所有権機構と特許協力条約の締約国である他の国

特許協力条約に基づく国際出願願書

原本（出願用）- 印刷日時 2003年07月08日 (08.07.2003) 火曜日 17時49分38秒

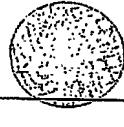
AN011PCT

V-2	国内特許 (他の種類の保護又は取扱いを 求める場合には括弧内に記載す る。)	AE AG AL AM AT AU AZ BA BB BG BR BY BZ CA CH&LI CN CO CR CU CZ DE DK DM DZ EC EE ES FI GB GD GE GH GM HR HU ID IL IN IS JP KE KG KP KR KZ LC LK LR LS LT LU LV MA MD MG MK MN MW MX MZ NI NO NZ OM PG PH PL PT RO RU SC SD SE SG SK SL SY TJ TM TN TR TT TZ UA UG US UZ VC VN YU ZA ZM ZW	
V-5	指定の確認の宣言 出願人は、上記の指定に加えて 、規則4.9(b)の規定に基づき、 特許協力条約のもとで認められ る他の全ての国の指定を行う。 ただし、V-6欄に示した国を指 定を除く。出願人は、これらの 追加される指定が確認を条件と していること、並びに優先日か ら15月が経過する前にその確認 がなされない指定は、この期間 の経過時に、出願人によって取 り下げられたものとみなされる ことを宣言する。		
V-6	指定の確認から除かれる国	なし (NONE)	
VII	優先権主張	なし (NONE)	
VII-1	特定された国際調査機関 (ISA)	日本国特許庁 (ISA/JP)	
VIII	申立て	申立て数	
VIII-1	発明者の特定に関する申立て	-	
VIII-2	出願し及び特許を与えられる国 際出願日における出願人の資格 に関する申立て	-	
VIII-3	先の出願の優先権を主張する国 際出願日における出願人の資格 に関する申立て	-	
VIII-4	発明者である旨の申立て (米国 を指定国とする場合)	-	
VIII-5	不利にならない開示又は新規性 喪失の例外に関する申立て	-	
IX	照合欄	用紙の枚数	添付された電子データ
IX-1	願書 (申立てを含む)	5	-
IX-2	明細書 (配列表を除く)	42	-
IX-3	請求の範囲	2	-
IX-4	要約	1	EZABST00.TXT
IX-5	図面	19	-
IX-7a	国際出願に含まれる用紙の枚数 (明細書の配列表を除く)	69	-
IX-6	明細書の配列表	7	-
IX-7	合計	76	

特許協力条約に基づく国際出願願書

原本(出願用) - 印刷日時 2003年07月08日 (08.07.2003) 火曜日 17時49分38秒

AN081PCT

	添付書類	添付	添付された電子データ
IX-8	手数料計算用紙	✓	-
IX-16	コンピュータ読み取り可能な又 クレオチド又はアミノ酸配列表 :	-	-
IX-16 -(1)	規則13の3に基づき提出する 国際調査のための写し(国際 出願の一部を構成しない)	-	1 フレキシブルディスク
IX-17	PCT-EASYディスク	-	フレキシブルディスク
IX-18	その他	陳述書	-
IX-18	その他	フレキシブルディスクの 記録形式等の情報を記載 した書面	-
IX-19	要約書とともに提示する図の 番号		
IX-20	国際出願の使用言語名:	日本語	
X-1	提出者の記名押印		
X-1-1	氏名(姓名)	山本 秀策	
X-2	提出者の記名押印		
X-2-1	氏名(姓名)	安村 高明	
X-3	提出者の記名押印		
X-3-1	氏名(姓名)	森下 夏樹	

受理官庁記入欄

10-1	国際出願として提出された書類の実際の受理の日	09.07.03
10-2	図面:	
10-2-1	受理された	
10-2-2	不足図面がある	
10-3	国際出願として提出された書類を補完する書類又は図面であつてその後期間内に提出されたものの実際の受理の日(訂正日)	
10-4	特許協力条約第11条(2)に基づく必要な補完の期間内の受理の日	
10-5	出願人により特定された国際調査機関	ISA/JP
10-6	調査手数料未払いにつき、国際調査機関に調査用写しを送付していない	

国際事務局記入欄

II-1	記録原本の受理の日	
------	-----------	--

明細書

デコイを含む薬学的組成物およびその使用方法

技術分野

5 本発明は、染色体上に存在する、転写調節因子が結合する部位と特異的に結合する化合物（例えば、核酸およびその類似体）を含む組成物およびその使用方法に関する。より詳細には、本発明は、デコイ化合物を含む組成物およびその使用方法に関する。

10 背景技術

喘息、癌、心臓病、動脈瘤、自己免疫疾患およびウイルス感染症などの種々の疾患は、それぞれ異なる症状を示すにもかかわらず、その大部分は、1種類または数種類のタンパク質が、異常発現（過剰発現または過少発現）したことに起因することが示唆されている。一般に、これらタンパク質の発現は、種々の転写活性因子および転写抑制遺伝子などの転写調節因子によって制御されている。

15 代表的な転写因子であるNF- κ Bは、p65とp50のヘテロダイマーからなる転写調節因子である。NF- κ Bは、通常、その阻害因子I κ Bが結合した形で細胞質内に存在し、その核内移行が阻止されている。ところが、何らかの原因で、サイトカイン、虚血、再灌流などの刺激が加わると、I κ Bがリン酸化を受けて分解され、それによってNF- κ Bが活性化されて核内に移行する。核内に移行したNF- κ Bは、染色体上のNF- κ B結合部位に結合し、その下流にある遺伝子の転写を促進する。NF- κ B結合部位の下流にある遺伝子として、例えば、IL-1、IL-6、IL-8、腫瘍壞死因子 α （TNF α ）などの炎症性サイトカイン類、VCAM-1、ICAM-1などの接着因子が知られている。

20 25 NF- κ Bは、腫瘍悪性度の進行の開始に関与し得る（R a y e t Bら、O

ncogene 1999 Nov 22; 18 (49) 6938-47) ; NF- κ Bは、低酸素症ストレスに対する腫瘍細胞の応答に関与する (Royds JAら、Mol Pathol 1998 Apr; 51 (2) : 55-61) ; NF- κ Bデコイは、慢性関節リウマチ患者由来の滑膜細胞におけるサイトカインおよび接着分子の発現を阻害する (Tomita Tら、Rheumatology (Oxford) 2000 Jul; 39 (7) : 749-57) ; NF- κ Bを含む複数の転写因子間の協力作用の抑制は、種々の癌の悪性表現型を変える (Denhardt DT、Crit Rev Oncog 1996; 7 (3-4) : 261-91) ; 緑茶ポリフェノールによるNF- κ B活性のダウンレギュレーションは、一酸化窒素合成酵素の誘導をブロックし、A431ヒト類表皮癌細胞を抑制する (Lin JKら、Biochem Pharmacol 1999 Sep 15; 58 (6) : 911-5) ; アルツハイマー病患者の脳で見られるアミロイド β ペプチドは、神経芽腫細胞において、75 kD神経栄養因子レセプター (p75NTR) に結合することにより、NF- κ Bを時間依存性様式および用量依存性様式で活性化する (Kuper Pら、J Neurosci Res 1998 Dec 15; 54 (6) : 798-804) ; NF- κ Bで活性化されるTNF α は、糸球体腎炎の発症に重要な役割を演じる (Ardaillouら、Bull Acad Natl Med 1995 Jan; 179 (1) 103-15) 。NF- κ Bデコイは、TNF α で誘導されるマウス腎炎においてサイトカインおよび接着分子の発現をインビボで阻害する (Tomita Nら、Gene Ther 2000 Aug; 7 (15) 1326-32) ; など。

NF- κ Bは、マトリックスメタロプロテイナーゼ (MMP) のメンバーであるMMP 1およびMMP 9を転写レベルで抑制することが示唆された (Amplicification of IL-1beta-induced matrix metalloproteinase-9 expression by su

peroxide in rat glomerular mesangial cells is mediated by increased activities of NF- κ B and activating protein-1 and involves activation of the mitogen-activated protein kinase pathways. Eberhardt W, Huwiler A, Beck KF, Walpen S, Pfeilschifter J. J Immunol 2000 Nov 15, 165 (10), 5788-97; Nuclear factor κ B activity is essential for matrix metalloproteinase-1 and -3 upregulation in rabbit dermal fibroblasts. Biochem Biophys Res Commun. Bond M, Baker AH, Newby AC. 1999 Oct 22, 264 (2), 561-7; Synergistic upregulation of metalloproteinase-9 by growth factors and inflammatory cytokines: an absolute requirement for transcription factor NF- κ B. Bond M, Fabunmi RP, Baker AH, Newby AC. FEBS Lett 1998 Sep 11, 435 (1), 29-34; およびLipopolysaccharide activates matrix metalloproteinase-2 in endothelial cells through an NF- κ B-dependent pathway. Kim H, Koh G. Biochem Biophys Res Commun. 2000 Mar 16, 269 (2), 401-5)。

MMPは、細胞外マトリックス成分の分解に関与する亜鉛依存性酵素の多遺伝



子ファミリーである。またetsも、マトリックスマタロプロテイナーゼ(MMP)のメンバーであるMMP1およびMMP9を転写レベルで抑制することが知られている(Signal transduction and transcriptional regulation of angiogenesis.

5 Sato Y, Abe M, Tanaka K, Iwasaka C, Oda N, Kanno S, Oikawa M, Nakano T, Igarashi T. *Adv Exp Med Biol* 2000; 476: 109-15; およびETS-1 converts endothelial cells to the angiogenic phenotype by inducing the expression of matrix metalloproteinases and integrin beta3. Oda N, Abe M, Sato Y. *J Cell Physiol* 1999 Feb; 178 (2): 121-32).

10

MMPは、細胞外マトリックスタンパク質の分解を仲介することにより癌細胞侵入において重要な役割を果たす。多くの癌研究によって、MMPのインヒビター(TIMPなど)が、癌の進行を抑制することが示唆されている：血清中のTIMP1レベルは、結腸直腸の予後および診断マーカーとなり、そして転移性癌の選択的マーカーとして用い得る(Pellegrini Pら、*Cancer Immunol Immunother* 2000 Sep; 49 (7): 388-94)；ヒト膀胱癌細胞中のMMP2およびMMP9の発現および活性は、腫瘍壞死因子 α と γ インターフェロンの影響を受ける(Shin KYら、*Cancer Lett* 2000 Oct 31; 159 (2): 127-134)；卵巣上皮腫瘍で、MMP2、MMP9、MT1-MMP、およびそれらのインヒビターTIMP1、TIMP2が発現する(Sakata Kら、*Int J Oncol* 2000 Oct; 17 (4): 673-681)；MMP1、MMP2、MMP3およびMMP9の各々のレベルおよび総MMP活性は、結腸

20

25

直腸腫瘍でアップレギュレートし、MMP 1 が結腸直腸癌進行に最も重要である
(Baker EAら、Br J Surg 2000 Sep; 87 (9) : 1215-1221) ; 活性化されたMMP 2 が、尿路上皮癌の浸潤に重要な役割を演じ、しかも活性化されたMMP 2 発現のレベルが有用な予後指標となる
5 (Kaneda Kら、BJU Int 2000 Sep; 86 (4) : 553-557) ; プロスタグランジン合成のインヒビターが、ヒト前立腺腫瘍細胞浸潤を阻害し、かつMMPの放出を低減する (Attig a FAら、Cancer Res 2000 Aug 15; 60 (16) : 4629-37) ; 血清真性グロブリン画分中のMMP活性が、乳癌および肺癌患者で増加し、これら癌の腫瘍マーカーとして用い得る (Farias Eら、Int J Cancer 2000 Jul 20; 89 (4) : 389-94) ; MMPインヒビターは、腫瘍細胞におけるゼラチン分解活性を阻害する (Ikeda Mら、Clin Cancer Res 2000 Aug; 6 (8) : 3290-6) ; 膜タンパク質LMP 1 によるMMP 9 の誘導が、鼻咽頭癌 (NPC) の転移性に寄与する (Horikawa Tら、Cancer 2000 Aug 15; 89 (4) : 715-23) ; MMPは、血管形成の初期に重要な役割を演じ、MMPインヒビターがヒト微小血管内皮細胞浸潤および形態形成を抑制する (Jia MCら、Adv Exp Med Biol 2000; 476 : 181-94) ; 浸潤性および再発性下垂体腺腫および下垂体癌においてMMP 9 が発現する (Turner HEら、J Clin Endocrinol Metab 2000 Aug; 85 (8) : 2931-5) ; など。

MMPはまた、大動脈瘤の進展に関与することが知られている : MMPは、脳動脈瘤形成および破壊に関与する (Gaetani Pら、Neurol Res 1999 Jun; 21 (4) : 385-90) ; MMP-9の活性上昇は、脳動脈瘤のリスクファクターである (Peters DGは、Stroke 1999 Dec; 30 (12) : 2612-6) ; MMPの阻害は、動脈瘤モ

ルにおいて、小動脈瘤の成長の阻害をもたらす (Treharne GDは、Br J Surg 1999 Aug; 86 (8) : 1053-8) ; など。MMPは、遊走血管平滑筋細胞、マクロファージなどから分泌され、血管壁に存在するコラーゲン、エラスチンを破壊し、これによって血管の緊張が失われ、血圧に抵抗しきれずに血管径は拡張する。事実、動脈瘤の血管では、顕著なエラスチンの破壊が認められる (Pathogenesis of aneurysms. Halloran BG, Baxter BT. Semin Vasc Surg 1995 Jun; 8 (2) : 85-92)。

大動脈瘤破裂はほとんどが死に至る。大動脈瘤破裂を防ぐためには、動脈硬化の危険因子を抑制することが重要である。しかし、このような危険因子の抑制を完全に行なうことは困難である。現在、大動脈瘤破裂を回避する手段は、侵襲的な手術によるほかない。

35才から80才までの成人男性の大動脈径を測定したデータ (Abdominal Aortic Aneurysms. Dolores J Katz, James C. Stanley, Gerald B. Zelenock. Seminars in Vascular Surgery, vol 8, No 4 (Dec), 1995; pp 289-298) によると、その平均は1.5cm～2.0cmであった。一般に、大動脈径が、平均値の1.5倍を超えると大動脈瘤と判断されるが、上記データによれば、直徑3cm以上の瘤を有し、大動脈瘤と判断されるヒトは、400人に1人の割合で存在していた。従って、大動脈破裂の危険度は別にして、35才から80才までの成人男性において大動脈瘤の有病率はかなり高く、65才以上の高齢者においては有病率はさらに大きくなると考えられている。

MMPはまた、慢性関節リウマチに関与することが知られている：薬剤処理による慢性関節リウマチの改善は、滑膜組織中のMMP 1の減少をもたらす (Kraan MCら、Arthritis Rheum 2000 Aug; 43

(8) : 1820-30) ; IL-1 β によるMT-MMP発現のアップレギュレーションは、MMP-2活性化を部分的に誘導し、慢性関節リウマチにおけるサイトカイン媒介関節破壊をもたらす (Origuchi Tら、Clin Exp Rheumatol 2000 May-Jun; 18 (3) : 333-9) ; 慢性関節リウマチ滑膜により産生される炎症性サイトカインIL-17は、MMP1の産生を増加する (Chabaud Mら、Cytokine 2000 Jul; 12 (7) : 1092-9) ; MMP1、MMP2、MMP3、MMP8、MMP9およびMMPインヒビターは、慢性関節リウマチ滑液中に高レベルで存在し、MMP類が活性化されるとMMPインヒビターとのバランスが崩れ、軟骨破壊に至る (Yoshihara Yら、Ann Rheum Dis 2000 Jun; 59 (6) : 455-61) ; MT1-MMPは、リウマチ滑膜ライニング細胞層中のプロMMP-2の活性化に関与し、慢性関節リウマチにおける軟骨破壊をもたらす (Yamanaka Hら、Lab Invest 2000 May; 80 (5) : 677-87) ; など。

15 MMPはまた、マルファン症候群における心血管病変に関与する (Segura AMら、Circulation 1998 Nov 10; 98 (19 Suppl) : 11331-7) 。

膜タイプ-MMP (MT-MMP) の発現は、メサンギウム増殖性糸球体腎炎で増加する (Hayashi Kら、J Am Soc Nephrol 1998 Dec; 9 (12) : 2262-71) 。

20 MMPインヒビターは、ラット腹部大動脈瘤モデルにおいて、血管径の拡張を抑制することが報告されている (Suppression of experimental abdominal aortic aneurysms by systemic treatment with a hydroxamate-based matrix metalloproteinase inhibitor (RS 132908) . Moore G, Liao S, Cu

rci JA, Starcher BC, Martin RL, Hendricks RT, Chen JJ, Thompson RW. J Vasc Surg. 1999 Mar; 29 (3) : 522-32)。

5 MMPインヒビターはまた、糸球体腎炎の治療に用いられ得る (Martini HP, Schweiz Med Wochenschr 2000 May 27; 130 (21) : 784-8)。しかし、MMPインヒビターの全身投与は、重篤な副作用を生じ、上記種々の疾患の処置（治療および予防）するための臨床適用は困難である。

10 気管支喘息、アレルギー性喘息、小児喘息などの喘息もまた、多くの罹患患者がいるにもかかわらず、根本的な処置が困難な疾患であり、根本的治療が待ち望まれている疾患のひとつである。現在の治療は、対症療法的なところに負うところが大きく、発作時にテオフィリンなどの気管支拡張薬を投与することで対処されることが多い。しかし、このような対症療法では、発作が起こってからの対処とならざるを得ず、患者の症状を完全に抑えることができず、しかも完全治癒させることもできない。従って、原因を断ち切る療法の登場が待ち望まれている。

15 NF- κ Bなどの転写因子は、その転写制御下にある、多くの遺伝子の発現を介して、種々の疾患に関与することが示唆されているが、このような疾患を有効に処置する方法、特に非侵襲的処置法は提供されていない。特に、大動脈瘤は、上記のように稀ではない疾患であり、高齢化社会にともなう動脈硬化性疾患の増加は、当然大動脈瘤疾患の増加をもたらす。患者の高齢化を考慮した場合、薬剤により大動脈瘤の増長を直接抑制できれば理想的であるが、現在のところその手段はなく、大動脈瘤の低侵襲的な治療および予防法の開発が切望されている。癌、マルファン症候群、大動脈解離、血管形成術後再狭窄、慢性関節リウマチ、喘息、アトピー性皮膚炎、腎炎、腎不全またはプラークランチャーなどの種々の疾患もまた、患者数が多く、その症状に重篤なものが多いことから、大動脈瘤の低侵襲的な治療および予防法の開発が切望されている。

発明の開示

本発明は、NF- κ Bまたはetsによって制御される遺伝子の発現に起因する上記種々の疾患を処置するために適した組成物およびその使用法を提供する。

5 本発明は、NF- κ Bデコイ、etsデコイ、またはNF- κ Bとetsとのキメラ（ダブル）デコイを主成分として含有し、NF- κ Bまたはetsにより制御される遺伝子の発現に起因する種々の疾患を処置（治療および予防）するための組成物および該疾患の処置方法を提供する。

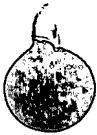
10 本発明者らは、NF- κ Bまたはetsにより制御される遺伝子の発現に起因する疾患を処置するために、NF- κ Bのデコイ、またはetsのデコイ、またはNF- κ Bとetsとのキメラ（ダブル）デコイを投与することが有効であることを見出し、本発明を完成するに至った。

15 本発明は、NF- κ Bまたはetsに制御される遺伝子の発現に起因する疾患、障害および／または状態を治療および予防するための薬学的組成物に関し、この組成物は、少なくとも1つのデコイ、および薬学的に受容可能なキャリアを含む。

20 好ましくは、上記少なくとも1つのデコイは、NF- κ Bのデコイまたはes tのデコイ、そしてより好ましくはNF- κ Bとes tとのキメラ（ダブル）デコイ、あるいはNF- κ Bのデコイまたはその誘導体、改変体もしくはフラグメントであり、該誘導体、改変体もしくはフラグメントは、生物学的活性を有するデコイである。

好ましくは、上記疾患は、大動脈瘤、脳動脈瘤、癌、マルファン症候群、大動脈解離、血管形成術後再狭窄、慢性関節リウマチ、喘息、アトピー性皮膚炎、腎炎、腎不全またはプラークランチャーである。

25 好ましくは、上記疾患は、好酸球の異常に関連する疾患である。そのような好酸球の異常に関連する疾患としては、例えば、喘息（気管支喘息、小児喘息、アレルギー性喘息、アトピー性喘息、ステロイド不応性喘息（ステロイド抵抗性喘



息；SRA）、非アレルギー性喘息（内因性喘息、外因性喘息、例えば、アスピリン喘息、心臓性喘息、感染型喘息））、他の好酸球異常（例えば、喘息、アレルギー性疾患、皮膚疾患および真菌症など）が挙げられる。

5 好ましくは、上記薬学的に受容可能なキャリアは親水性ポリマーまたはリポソームである。

別の局面では、本発明は、NF- κ Bまたはetsによって制御される遺伝子の発現に起因する疾患を治療および／または予防するための、あるいは、好酸球の異常に関連する疾患、障害および／または状態を、治療および／または予防するための、あるいは該治療および／または予防のための薬学的組成物の調製のための、少なくとも1つのデコイの使用に関する。

図面の簡単な説明

図1は、ヒト大動脈最拡張部の光学顕微鏡写真である。

図2は、ヒト大動脈最拡張部の光学顕微鏡写真である。

15 図3は、ヒト大動脈最拡張部の光学顕微鏡写真である。

図4は、本発明の薬学的組成物を用いた試験結果を示す図である。

図5は、本発明の薬学的組成物を用いた試験結果を示す図である。

図6は、本発明の薬学的組成物を用いた試験結果を示す図である。

図7は、本発明の薬学的組成物を用いた試験結果を示す図である。

20 図8は、本発明の薬学的組成物を用いた試験結果を示すラットの腹部大動脈壁の断面の蛍光顕微鏡写真である。

図9は、本発明の薬学的組成物を用いた試験結果を示すラットの腹部大動脈壁の断面の蛍光顕微鏡写真である。

図10は、本発明の薬学的組成物を用いた試験結果を示す図である。

25 図11は、喘息モデルを使用した場合に本発明の薬学的組成物の効果を示す実験のプロトコル例である（図11A）。図11BおよびCには、デコイ吸入の様



子を示す。

図12は、オボアルブミンチャレンジ動物の気管支肺胞洗浄液中での本発明の薬学的組成物の効果を示す結果である。図12AおよびBには、好酸球の計数のための基本データを示す。図12Cに示す本発明の効果を示す図では、左から、
5 コントロール、オボアルブミンチャレンジ、エアゾール処置（2mg×2）、および液体処置（0.5mg×1）の結果を示す。

図13は、オボアルブミンチャレンジ動物の気管支肺胞洗浄液中での本発明の薬学的組成物の効果を示す結果である。図13A（好酸球細胞数）およびB（好酸球%）に示す本発明の効果を示す図では、左から、コントロール、オボアルブ
10 ミンチャレンジ、裸のデコイ500μg、HVJ（200；HVJ-E 10000 HAUおよびデコイ200μgを含む）、HVJ（500；HVJ-E 25000 HAUおよびデコイ500μgを含む）およびベクター（HVJ-E 25000 HAUのみ、デコイなし）の結果を示す。#は、オボアルブミンチャレンジに対する統計学的有意性を示す。

15 図14は、デコイによる好酸球の挙動の例示を示す。

以下に、本発明の好ましい実施形態を示すが、当業者は本発明の説明および当該分野における周知慣用技術からその実施形態などを適宜実施することができ、本発明が奏する作用および効果を容易に理解することが認識されるべきである。

20

発明を実施するための最良の形態

以下に本発明の最良の形態を説明する。本明細書の全体にわたり、単数形の表現は、特に言及しない限り、その複数形の概念をも含むことが理解されるべきである。従って、単数形の冠詞（例えば、英語の場合は「a」、「a n」、「t h e」など、独語の場合の「e i n」、「d e r」、「d a s」、「d i e」などおよびその格変化形、仏語の場合の「u n」、「u n e」、「l e」、「l a」



など、スペイン語における「u n」、「u n a」、「e l」、「l a」など、他の言語における対応する冠詞、形容詞など)は、特に言及しない限り、その複数形の概念をも含むことが理解されるべきである。また、本明細書において使用される用語は、特に言及しない限り、当該分野で通常用いられる意味で用いられることが理解されるべきである。したがって、他に定義されない限り、本明細書中で使用される全ての専門用語および科学技術用語は、本発明の属する分野の当業者によって一般的に理解されるのと同じ意味を有する。矛盾する場合、本明細書(定義を含めて)が優先する。

以下に提供される実施形態は、本発明のよりよい理解のために提供されるものであり、本発明の範囲は以下の記載に限定されるべきでないことが理解される。従って、当業者は、本明細書中の記載を参照して、本発明の範囲内で適宜改変を行うことができることは明らかである。

本発明で用いられる用語「デコイ」または「デコイ化合物」とは、NF- κ B またはetsが結合する染色体上の部位、あるいはNF- κ B またはetsに制御される遺伝子の他の転写調節因子が結合する染色体上の部位(以下標的結合部位という)に結合し、NF- κ B またはets またはその他の転写因子と、これらの標的結合部位への結合について拮抗する化合物をいう。代表的には、デコイまたはデコイ化合物は、核酸およびその類似体である。

デコイが核内に存在する場合、転写調節因子の標的結合部位への結合について、デコイが転写調節因子と競合し、その結果、転写調節因子の標的結合部位への結合によってもたらされる生物学的機能が阻害される。デコイは、標的結合配列に結合し得る核酸配列を少なくとも1つ含む。標的結合配列への結合活性を有する限り、デコイは、本発明の薬学的組成物の調製に用いることができる。

好ましいデコイの例として、5' - CCT-TGA-AGG-GAT-TTC
-CCT-CC-3' (配列番号1) (NF- κ Bデコイ)、もしくは5' -A
AT-TCA-CCG-GAA-GTA-TTC-GA-3' (配列番号3)

(e t s デコイ)、もしくは 5' - ACC - GGA - AGT - ATG - AGG - GAT - TTC - CCT - CC - 3' (配列番号 5) (NF- κ B と e t s のキメラ (ダブル) デコイ)、またはこれらの相補体を含むオリゴヌクレオチド、これらの変異体、またはこれらを分子内に含む化合物が挙げられる。他に好ましいデコイの例として、5' - GATCTAGGGATTTCCGGGAAATGAGCT - 3' (配列番号 7) (STAT-1 のデコイ)、5' - AGCTTGAGATAGAGCT - 3' (配列番号 8) (GATA-3 のデコイ)、5' - GATCAAGACCTTTCCCAAGAAATCTAT - 3' (配列番号 9) (STAT-6 のデコイ)、5' - AGCTTGTGAGTCAGAACGCT - 3' (配列番号 10) (AP-1 のデコイ)、および 5' - TGACGTCAT - 3' (CRE デコイ配列) (配列番号 11)、5' - CTAGATTCCCGC - 3' (E2F デコイ配列) (配列番号 12) またはこれらの相補体を含むオリゴヌクレオチド、これらの変異体、またはこれらを分子内に含む化合物が挙げられるがそれらに限定されない。オリゴヌクレオチドは、DNA でも RNA でもよく、またはそのオリゴヌクレオチド内に核酸修飾体 (「誘導体ヌクレオチド」) および/または擬核酸を含むもの (「誘導体オリゴヌクレオチド」) であってもよい。また、これらのオリゴヌクレオチド、その変異体、またはこれらを分子内に含む化合物は、1 本鎖でも 2 本鎖であってもよく、線状であっても環状であってもよく、分岐していても直鎖状であってもよい。変異体とは上記配列の一部が、変異、置換、挿入、欠失しているもので、NF- κ B または NF- κ B に制御される遺伝子の他の転写調節因子が結合する核酸結合部位と特異的に拮抗する核酸を示す。さらに好ましい NF- κ B または e t s、あるいは NF- κ B に制御される遺伝子の他の転写調節因子のデコイとしては、上記核酸配列を 1 つまたは複数含む 2 本鎖オリゴヌクレオチドまたはその変異体が挙げられる。上記核酸配列を 1 つまたは複数含む核酸は、含まれる核酸配列の数を示すために、含まれる核酸配列が 2 つの場合キメラ (タブル) デコイと称され、そして



3つの場合トリプルデコイなどと称され得る。

本発明で用いられるオリゴヌクレオチドは、リン酸ジエステル結合部の酸素原子をイオウ原子で置換したチオリン酸ジエステル結合をもつオリゴヌクレオチド(S-オリゴ)、またはリン酸ジエステル結合を電荷をもたないメチルホスフェート基で置換したオリゴヌクレオチド等、生体内でオリゴヌクレオチドが分解を受けにくくするために改変したオリゴヌクリオチド等が含まれる。

本明細書において用いられる分子生物学的手法、生化学的手法、微生物学的手法は、当該分野において周知であり、慣用されるものであり、例えば、Ausubel F. A. ら編(1988)、Current Protocols in Molecular Biology、Wiley、New York、NY; Sambrook J ら(1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY、別冊実験医学「遺伝子導入&発現解析実験法」羊土社、1997などに記載される。

本明細書において、「核酸」、「核酸分子」、「ポリヌクレオチド」および「オリゴヌクレオチド」は、特に言及する場合を除き交換可能に用いられ、一連のヌクレオチドからなる高分子(重合体)をいう。ヌクレオチドとは、部分がリン酸エステルになっているヌクレオシドをいう。塩基部分としては、ピリミジン塩基またはプリン塩基のヌクレオチド(ピリミジンヌクレオチドおよびプリンヌクレオチド)がある。ポリヌクレオチドを構成するヌクレオチドとしては、DNAまたはRNAが挙げられる。

また、ヒトゲノムプロジェクトのようなゲノムデータ、GenBankのような遺伝子情報データベースに対して、本発明のデコイの配列をもとにBLAST、FASTAのようなソフトウェアを用いて相同性検索を行って得られた配列もまた、本発明の範囲内にあり、そのようなデータベースをもとに作成したライブラ

リーに対して生物学的にスクリーニング（例えば、ストリンジエントな条件下で獲得する）することによって得られた配列もまた、本発明の範囲内にある。

本明細書では塩基配列の同一性、相同性および類似性の比較は、特に言及しない限り、配列分析用ツールであるF A S T Aを用いてデフォルトパラメータを用いて算出される。

本明細書において、「ストリンジエントな条件でハイブリダイズするポリヌクレオチド」とは、当該分野で慣用される周知の条件をいう。本発明のポリヌクレオチド中から選択されたポリヌクレオチドをプローブとして、コロニー・ハイブリダイゼーション法、ブラーク・ハイブリダイゼーション法あるいはサザンプロットハイブリダイゼーション法などを用いることにより、そのようなポリヌクレオチドを得ることができる。具体的には、コロニーあるいはブラーク由来のDNAを固定化したフィルターを用いて、0.7～1.0MのNaCl存在下、65℃でハイブリダイゼーションを行った後、0.1～2倍濃度のSSC (saline-sodium citrate) 溶液（1倍濃度のSSC溶液の組成は、150mM 塩化ナトリウム、15mM クエン酸ナトリウムである）を用い、65℃条件下でフィルターを洗浄することにより同定できるポリヌクレオチドを意味する。ハイブリダイゼーションは、Molecular Cloning 2nd ed., Current Protocols in Molecular Biology, Supplement 1～38, DNA Cloning 1: Core Techniques, A Practical Approach, Second Edition, Oxford University Press (1995)などの実験書に記載されている方法に準じて行うことができる。ここで、ストリンジエントな条件下でハイブリダイズする配列からは、好ましくは、A配列のみまたはT配列のみを含む配列が除外される。

特に言及する場合、本明細書において「高度にストリンジエントな条件」は、核酸配列において高度の相補性を有するDNA鎖のハイブリダイゼショ

ンを可能にし、そしてミスマッチを有意に有するDNAのハイブリダイゼーションを除外するように設計された条件をいう。ハイブリダイゼーションのストリンジエンシーは、主に、温度、イオン強度、およびホルムアミドのような変性剤の条件によって決定される。このようなハイブリダイゼーションおよび洗浄に関する「高度にストリンジエントな条件」の例は、0.0015M 塩化ナトリウム、0.0015M クエン酸ナトリウム、65～68°C、または0.015M 塩化ナトリウム、0.0015M クエン酸ナトリウム、および50% ホルムアミド、42°Cである。このような高度にストリンジエントな条件については、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual、第2版、Cold Spring Harbor Laboratory (Cold Spring Harbor, N. Y. 1989)；およびAnderson et al.、Nucleic Acid Hybridization: a Practical approach、IV、IRL Press Limited (Oxford, England) Limited, Oxford, Englandを参照のこと。必要により、よりストリンジエントな条件（例えば、より高い温度、より低いイオン強度、より高いホルムアミド、または他の変性剤）を、使用してもよい。他の薬剤が、非特異的なハイブリダイゼーションおよび／またはバックグラウンドのハイブリダイゼーションを減少する目的で、ハイブリダイゼーション緩衝液および洗浄緩衝液に含まれ得る。そのような他の薬剤の例としては、0.1%ウシ血清アルブミン、0.1%ポリビニルピロリドン、0.1%ピロリン酸ナトリウム、0.1%ドデシル硫酸ナトリウム (NaDodeSO_4 またはSDS)、Ficoll、Denzhardt溶液、超音波処理されたサケ精子DNA（または別の非相補的DNA）および硫酸デキストランであるが、他の適切な薬剤もまた、使用され得る。これらの添加物の濃度および型は、ハイブリダイゼーション条件のストリンジエンシーに実質的に影響を与えることなく変更



5

され得る。ハイブリダイゼーション実験は、通常、pH 6.8～7.4で実施されるが；代表的なイオン強度条件において、ハイブリダイゼーションの速度は、ほとんどpHに依存しない。Anderson et al.、Nucleic Acid Hybridization: a Practical Approach、第4章、IRL Press Limited (Oxford, England) 参照。

10

DNA二重鎖の安定性に影響を与える因子としては、塩基の組成、長さおよび塩基対不一致の程度が挙げられる。ハイブリダイゼーション条件は、当業者によって調整され得、これらの変数を適用させ、そして異なる配列関連性のDNAがハイブリッドを形成するのを可能にする。完全に一致したDNA二重鎖の融解温度は、以下の式によって概算され得る。

$$T_m (^\circ\text{C}) = 81.5 + 16.6 (\log [\text{Na}^+]) + 0.41 (\% \text{G} + \text{C}) - 600/N - 0.72 (\% \text{ホルムアミド})$$

15

ここで、Nは、形成される二重鎖の長さであり、 $[\text{Na}^+]$ は、ハイブリダイゼーション溶液または洗浄溶液中のナトリウムイオンのモル濃度であり、% G+Cは、ハイブリッド中の（グアニン+シトシン）塩基のパーセンテージである。不完全に一致したハイブリッドに関して、融解温度は、各1%不一致（ミスマッチ）に対して約1°Cずつ減少する。

20

特に言及する場合、本明細書において「中程度にストリンジエントな条件」とは、「高度にストリンジエントな条件」下で生じ得るよりも高い程度の塩基対不一致を有するDNA二重鎖が、形成し得る条件をいう。代表的な「中程度にストリンジエントな条件」の例は、0.015M 塩化ナトリウム、0.0015M クエン酸ナトリウム、50～65°C、または0.015M 塩化ナトリウム、0.0015M クエン酸ナトリウム、および20%ホルムアミド、37～50°Cである。例として、0.015M ナトリウムイオン中、50°Cの「中程度にストリンジエントな」条件は、約21%の不一致を許容する。

本明細書において「高度」にストリンジエントな条件と「中程度」にストリンジエントな条件との間に完全な区別は存在しないことがあり得ることが、当業者によって理解される。例えば、0.015M ナトリウムイオン（ホルムアミドなし）において、完全に一致した長いDNAの融解温度は、約71°Cである。65°C（同じイオン強度）での洗浄において、これは、約6%不一致を許容にする。より離れた関連する配列を捕獲するために、当業者は、単に温度を低下させ得るか、またはイオン強度を上昇し得る。

約20ヌクレオチドまでのオリゴヌクレオチドプローブについて、1M NaClにおける融解温度の適切な概算は、

$T_m = (1\text{つのA-T塩基につき } 2^\circ\text{C}) + (1\text{つのG-C塩基対につき } 4^\circ\text{C})$

によって提供される。なお、6×クエン酸ナトリウム塩（SSC）におけるナトリウムイオン濃度は、1Mである（Suggsら、Developmental Biology Using Purified Genes、683頁、BrownおよびFox（編）（1981）参照）。

NF- κ Bなどのデコイにおいて用いられる核酸は、例えば、配列番号1、3、5、7～13のいずれかに示される核酸配列の一部またはその改変体を含むPCRプライマーおよびハイブリダイゼーションプローブを有するcDNAライブラリーから容易に分離される。好まくは、NF- κ Bなどのデコイにおいて用いられる核酸は、本質的に1%ウシ血清アルブミン（BSA）；500mM リン酸ナトリウム（NaPO₄）；1mM EDTA；42°Cの温度で7% SDSを含むハイブリダイゼーション緩衝液、および本質的に2×SSC（600mM NaCl；60mM クエン酸ナトリウム）；50°Cの0.1% SDSを含む洗浄緩衝液によって定義される低ストリンジエント条件下、さらに好ましくは本質的に50°Cの温度での1%ウシ血清アルブミン（BSA）；500mM リン酸ナトリウム（NaPO₄）；15%ホルムアミド；1mM EDTA；7% SDS を含むハイブリダイゼーション緩衝液、お

および本質的に50°Cの1×SSC (300mM NaCl; 30mM クエン酸ナトリウム) ; 1% SDSを含む洗浄緩衝液によって定義される低ストリンジエント条件下、最も好ましくは本質的に50°Cの温度での1%ウシ血清アルブミン (BSA) ; 200mM リン酸ナトリウム (NaPO₄) ; 15%ホルムアミド；1mM EDTA；7%SDSを含むハイブリダイゼーション緩衝液、および本質的に65°Cの0.5×SSC (150mM NaCl; 15mM クエン酸ナトリウム) ; 0.1% SDSを含む洗浄緩衝液によって定義される低ストリンジエント条件下に配列番号1、3、5、7～13のいずれかに示す配列の1つまたはその一部とハイブリダイズし得る。

従って、本発明は、ストリンジエントな条件下で、特定の本発明の配列（例えば、配列番号1、3、5、7～13のいずれか1つ）とハイブリダイズする配列もまた包含することが意図される。このようなストリンジエントな条件は、例えば、高度なストリンジエントな条件、中程度のストリンジエントな条件、低ストリンジエント条件であってもよく、当業者は、目的に応じ、適宜そのような条件を選択することができる。1つの例示的実施形態では、本発明は、ストリンジエントな条件下において、特定の本発明の配列（例えば、配列番号1、3、5、7～13のいずれか1つ）とハイブリダイズする配列を含む核酸分子を包含することが意図される。

遺伝子の「相同性」とは、2以上の遺伝子配列の、互いに対する同一性の程度をいう。従って、ある2つの遺伝子の相同性が高いほど、それらの配列の同一性または類似性は高い。2種類の遺伝子が相同性を有するか否かは、配列の直接の比較、またはストリンジエントな条件下でのハイブリダイゼーション法によって調べられ得る。2つの遺伝子配列を直接比較する場合、その遺伝子配列間でDNA配列が、代表的には少なくとも50%同一である場合、好ましくは少なくとも70%同一である場合、より好ましくは少なくとも80%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一である場合、それらの遺伝子は相同性を



有する。

本明細書において、核酸分子の「断片（フラグメント）」とは、参照核酸分子の全長よりも短く、本発明の因子としての使用に充分な長さを有するポリヌクレオチドをいう。したがって、本明細書におけるフラグメントは、全長のポリヌクレオチド（長さがn）に対して、1～n-1までの配列長さを有するポリヌクレオチドをいう。フラグメントの長さは、その目的に応じて、適宜変更することができ、例えば、その長さの下限としては、ポリヌクレオチドの場合、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、75、100およびそれ以上のヌクレオチドが挙げられ、ここに具体的に列挙していない整数で表される長さ（例えば、11など）もまた、下限として適切であり得る。

「ハイブリダイズ可能なポリヌクレオチド」とは、上記ハイブリダイズ条件下で別のポリヌクレオチドにハイブリダイズすることができるポリヌクレオチドをいう。ハイブリダイズ可能なポリヌクレオチドとして具体的には、配列番号1、3、5、7～13のいずれか1に示すDNAの塩基配列と少なくとも60%以上の相同性を有するポリヌクレオチド、好ましくは80%以上の相同性を有するポリヌクレオチド、さらに好ましくは95%以上の相同性を有するポリヌクレオチドを挙げることができる。配列の相同性は、たとえばA1tsc Schulz (J. Mol. Biol. 215, 403-410 (1990)) が開発したアルゴリズムを使用した検索プログラムBLASTを用いることにより、scoreで類似度が示される。従って、特に言及しない限り、本明細書では、アミノ酸配列および塩基配列の類似性、同一性および相同性の比較は、配列分析用ツールであるFASTAを用い、デフォルトパラメータを用いて算出される。

本明細書において、遺伝子（例えば、核酸配列、アミノ酸配列など）の「類似性」とは、上記相同性において、保存的置換をポジティブ（同一）とみなした場合の、2以上の遺伝子配列の、互いに対する同一性の程度をいう。従って、保存的置換がある場合は、その保存的置換の存在に応じて相同性と類似性とは異なる。

また、保存的置換がない場合は、相同性と類似性とは同じ数値を示す。

例示的に、本明細書において配列（アミノ酸または核酸など）の「同一性」、「相同性」および「類似性」のパーセンテージは、比較ウィンドウで最適な状態に整列された配列2つを比較することによって求められる。ここで、ポリヌクレオチド配列またはポリペプチド配列の比較ウィンドウ内の部分には、2つの配列の最適なアライメントについての基準配列（他の配列に付加が含まれていればギャップが生じることもあるが、ここでの基準配列は付加も欠失もないものとする）と比較したときに、付加または欠失（すなわちギャップ）が含まれる場合がある。同一の核酸塩基またはアミノ酸残基がどちらの配列にも認められる位置の数を求めるこによって、マッチ位置の数を求め、マッチ位置の数を比較ウィンドウ内の総位置数で割り、得られた結果に100を掛けて同一性のパーセンテージを算出する。検索において使用される場合、相同性については、従来技術において周知のさまざまな配列比較アルゴリズムおよびプログラムの中から、適当なものを用いて評価する。このようなアルゴリズムおよびプログラムとしては、TB LASTN、BLASTP、FASTA、TFASTAおよびCLUSTALW（Pearson and Lipman, 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85 (8) : 2444-2448、Altschul et al., 1990, J. Mol. Biol. 215 (3) : 403-410、Thompson et al., 1994, Nucleic Acids Res. 22 (2) : 4673-4680、Higgins et al., 1996, Methods Enzymol. 266 : 383-402、Altschul et al., 1990, J. Mol. Biol. 215 (3) : 403-410、Altschul et al., 1993, Nature Genetics 3 : 266-272）があげられるが、何らこれに限定されるものではない。従って、特定の実施形態では、本発明は、上述の配列分析ツールのいずれかを用いて検索され同一性または類似性が本明細書において

言及される特定の数値以上の配列を包含する。

本明細書において、「対応する」遺伝子または配列（例えば、デコイ、プロモーター配列など）とは、ある種において、比較の基準となる種における所定の遺伝子または配列と同様の作用を有するか、または有することが予測される遺伝子または配列をいい、そのような作用を有する遺伝子または配列が複数存在する場合、進化学的に同じ起源を有するものをいう。従って、ある遺伝子または配列の対応する遺伝子または配列は、その遺伝子または配列のオルソログであり得る。

したがって、マウスのN F- κ B、e t s、S T A T-1などの遺伝子または配列に「対応する」遺伝子または配列は、他の動物（ヒト、ラット、ブタ、ウシなど）においても見出すことができる。そのような対応する遺伝子は、当該分野において周知の技術を用いて同定することができる。したがって、例えば、ある動物における対応する遺伝子または配列は、対応する遺伝子または配列の基準となる遺伝子（例えば、マウスのN F- κ Bなどの配列）の配列をクエリ配列として用いてその動物（例えばヒト、ラット）の配列データベースまたはライブラリーを検索することによって見出すことができる。このように、本発明には、特定の本発明の配列（例えば、配列番号1、3、5、7～13のいずれか1つ）に対応する配列もまた包含されることが意図される。

「誘導体オリゴヌクレオチド」および「誘導体ポリヌクレオチド」とは、ヌクレオチドの誘導体を含むか、またはヌクレオチド間の結合が通常とは異なるオリゴヌクレオチドをいう。そのようなオリゴヌクレオチドとして具体的には、オリゴヌクレオチド中のリン酸ジエステル結合がホスフォロチオエート結合に変換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のリン酸ジエステル結合がN 3' - P 5' ホスフォアミデート結合に変換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のリボースとリン酸ジエステル結合とがペプチド核酸結合に変換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のウラシルがC-5プロピニルウラシルで置換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌ



クレオチド中のウラシルがC-5チアジールウラシルで置換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のシトシンがC-5プロピニルシトシンで置換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のシトシンがフェノキサジン修飾シトシン (phenoxazine-modified cytosine) で置換された誘導体オリゴヌクレオチド、DNA中のリボースが2'-O-プロピルリボースで置換された誘導体オリゴヌクレオチドおよびオリゴヌクレオチド中のリボースが2'-メトキシエトキシリボースで置換された誘導体オリゴヌクレオチドなどが例示される。

本明細書において「生物学的活性」とは、ある因子（例えば、ポリヌクレオチドまたはポリペプチド）が、生体内において有し得る活性のことをいい、種々の機能を発揮する活性が包含される。例えば、ある因子が転写因子である場合、転写活性を調節する活性を包含する。ある因子が酵素である場合、その生物学的活性は、その酵素活性を包含する。別の例では、ある因子がリガンドである場合、そのリガンドが対応するレセプターへの結合を包含する。本発明の1実施形態では、その生物学的活性は、転写因子の少なくとも1つへの結合活性を包含する。そのような転写因子の結合活性の測定方法は、転写因子の結合配列と転写因子とを混合して、結合により生じる複合体を測定（例えば、電気泳動による観察）を行うことにより達成され得る。このような方法は、当業者に周知であり、慣用される方法である。

本明細書において「ヌクレオチド」は、天然のものでも非天然のものでもよい。「誘導体ヌクレオチド」とは、天然に存在するヌクレオチドとは異なるがもとのヌクレオチドと同様の機能を有するものをいう。そのような誘導体ヌクレオチドは、当該分野において周知である。そのような誘導体ヌクレオチドおよびヌクレオチドアログの例としては、ホスホロチオエート、ホスホルアミデート、メチルホスホネート、キラルメチルホスホネート、2-O-メチルリボヌクレオチド、ペプチドー核酸 (PNA) が含まれるが、これらに限定されない。

本明細書において、「改変体」とは、もとのポリヌクレオチドなどの物質に対して、一部が変更されているものをいう。そのような改変体としては、置換改変体、付加改変体、欠失改変体、短縮 (truncated) 改変体、対立遺伝子変異体などが挙げられる。対立遺伝子 (allele) とは、同一遺伝子座に属し、互いに区別される遺伝的改変体のことをいう。従って、「対立遺伝子変異体」とは、ある遺伝子に対して、対立遺伝子の関係にある改変体をいう。本明細書において、核酸分子の「ホモログ（種相同体）」とは、参照核酸分子のヌクレオチド配列と相同性を有するヌクレオチド配列を有する核酸分子をいう。ホモログは、代表的には、参照核酸分子と、ストリンジエント条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドをいう。本発明の核酸分子についていう場合、「ホモログ」とは、本発明のデコイの核酸配列と相同性を有する核酸配列を有する核酸分子であって、その生物学的機能が本発明のプロモーターと同一または類似する核酸分子をいう。従って、「ホモログ」と「改変体」とは一部重複する概念である。従って、ホモログは、ある種の中で、ある配列とヌクレオチドレベルで、相同性 (好ましくは、60%以上の相同性、より好ましくは、80%以上、85%以上、90%以上、95%以上の相同性) を有するものをいう。そのようなホモログを取得する方法は、本明細書の記載から明らかである。例えば、本発明のデコイのホモログは、同じ種の相同遺伝子または他の種の対応する遺伝子であり得る。従って、本発明のデコイには、すべてのデコイのホモログが含まれ得る。

本明細書において「単離された」生物学的因子（例えば、核酸またはタンパク質など）とは、その生物学的因子が天然に存在する生物体の細胞内の他の生物学的因子（例えば、核酸である場合、核酸以外の因子および目的とする核酸以外の核酸配列を含む核酸；タンパク質である場合、タンパク質以外の因子および目的とするタンパク質以外のアミノ酸配列を含むタンパク質など）から実質的に分離または精製されたものをいう。「単離された」核酸およびタンパク質には、標準的な精製方法によって精製された核酸およびタンパク質が含まれる。したがって、



単離された核酸およびタンパク質は、化学的に合成した核酸およびタンパク質を包含する。従って、1つの実施形態において、本発明の核酸は、そのような単離された核酸などであってもよい。

本発明で用いられるデコイの製造方法としては、当該分野で公知の化学合成法または生化学的合成法を用いることができる。例えば、デコイ化合物として核酸を用いる場合、遺伝子工学で一般的に用いられる核酸合成法を用いることができ、例えば、DNA合成装置を用いて目的のデコイ核酸を直接合成してもよいし、またはこれらの核酸、それを含む核酸またはその一部を合成した後、PCR法またはクローニングベクター等を用いて増幅してもよい。さらに、これらの方法により得られた核酸を、制限酵素等を用いて切断し、DNAリガーゼ等を用いて結合等を行い、目的とする核酸を製造してもよい。また、さらに細胞内でより安定なデコイ核酸を得るために、核酸の塩基、糖、リン酸部分に、例えば、アルキル化、アシル化等の化学修飾を施してもよい。

本発明は、上記のデコイ化合物を単独で、または安定化化合物、希釈剤、担体、または別の成分または薬剤のような他の薬剤と組み合わせて含む薬学的組成物を提供する。

本明細書において「患者」(subject)とは、本発明の処置または組成物が適用される生物をいう。患者は、本発明の処置または組成物が適用されることができる限り、どのような動物（例えば、霊長類、齧歯類など）であってもよい。患者は好ましくは、ヒトであり得る。

本明細書において「NF- κ Bまたはetsに制御される遺伝子の発現に起因する疾患、障害および/または状態」とは、転写因子であるNF- κ Bまたはetsにより発現（例えば、翻訳、転写など）が制御（例えば、増大、減少、遅延など）されることがその疾患、障害または状態の原因となっている疾患または障害をいう。そのような疾患、障害または状態としては、例えば、脳動脈瘤、癌、マルファン症候群、大動脈解離、血管形成術後再狭窄、慢性関節リウマチ、喘息、

アトピー性皮膚炎、腎炎、腎不全またはプラークランプチャーが挙げられるがそれらに限定されない。

本明細書において「好酸球の異常に関連する疾患、障害および／または状態」とは、原因または結果として、体内（例えば、血液内の）好酸球のレベルが、正常ではない任意の疾患、障害および／または状態をいう。好酸球は、表面にIgEレセプターを有し、アレルギー疾患で主な働きをすることが知られる。好酸球はまた、抗炎症作用を持ち、免疫調整細胞として働く。

そのような好酸球の異常に関連する疾患としては、例えば、喘息（気管支喘息、小児喘息、アレルギー性喘息、アトピー性喘息、ステロイド不応性喘息（ステロイド抵抗性喘息；SRA）、非アレルギー性喘息（内因性喘息、外因性喘息、例えば、アスピリン喘息、心臓性喘息、感染型喘息））、他の好酸球異常（例えば、真菌症、血液疾患（例えば、慢性骨髄性白血病、Hodgkin病）、アレルギー性疾患（例えば、じん麻疹、薬剤アレルギー、血管炎、皮膚筋炎、枯草熱；気管支喘息もまたアレルギー性疾患といえる）、寄生虫疾患（例えば、回虫、十二指腸虫、ジストマ、フィラリア）、皮膚疾患（例えば、天疱瘡、痒疹、多形滲出性紅斑）、悪性疾患（例えば、結節性動脈炎、好酸球性肉芽腫、PIE症候群、Loeffler症候群、好酸球性白血病）、潰瘍性大腸炎、限局性腸炎、サルコイドーシス、結核、アジソン病、Hypereosinophilic syndrome、薬剤（例えば：金製剤、capreomycin、amphotericin B）、白血病）投与による異常が挙げられるがそれらに限定されない。

本発明の薬学的組成物および方法を実施するにおいて、患者がヒトである場合、好ましくは、ヒトでの使用の前にインビトロで、そして次いでインビボで、および動物レベルで、所望の治療または予防のための適切な量について試験される。予備的実験としての細胞株および／または動物モデルに対する組成物の効果は、当業者に公知である技術を利用して決定され得る。本発明に従って、特定の化合物の投与が示されるか否かを決定するために用いられ得るインビトロアッセイと



しては、転写因子と転写因子結合配列との結合を観察することなどが挙げられる。動物レベルの試験では、ヒトと同様に組成物を投与し、治療効果レベルを確認すること（例えば、動脈瘤の回復、好酸球の変動などを観察する）によって判定することができる。当該分野において、通常、モデル動物において治療および／または予防効果が示されたならば、ヒトにおいても同様の効果が奏されることが理解される。

本発明の薬学的組成物は、デコイが患部の細胞内または目的とする組織の細胞内に取り込まれるような形態で用いられる。

本発明の薬学的組成物は、任意の無菌生体適合性薬学的キャリアー（生理食塩水、緩衝化生理食塩水、デキストロース、および水を含むが、それらに限定されない）中で投与され得る。これらの分子のいずれも、適切な賦形剤、アジュバント、および／または薬学的に受容可能なキャリアーと混合する薬学的組成物中にて、単独で、あるいは他の薬剤と組み合わせて患者に投与され得る。本発明の実施態様において、薬学的に受容可能なキャリアーは薬学的に不活性である。

本発明の薬学的組成物の投与は、経口または非経口により達成される。非経口送達の方法としては、局所、動脈内（例えば、腫瘍、動脈瘤に直接）、筋肉内、皮下、髄内、クモ膜下腔内、脳室内、静脈内、腹腔内、または鼻孔内の投与が挙げられる。デコイ化合物に加えて、これらの薬学的組成物は、賦形剤または薬学的に使用できる製剤を調製するために、デコイ化合物のプロセシングを促進する他の化合物を含む、適切な、薬学的に受容可能なキャリアーを含み得る。処方および投与のための技術のさらなる詳細は、例えば、「REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES」(Maack Publishing Co., Easton, PA) の最終版に記載されている。

経口投与のための薬学的組成物は、投与に適した投与形において当該分野で周知の薬学的に受容可能なキャリアを用いて処方され得る。このようなキャリアは、薬学的組成物が患者による摂取に適した錠剤、丸剤、糖衣剤、カプセル、液体、



ゲル、シロップ、スラリー、懸濁物などに処方されることを可能とする。

経口使用のための薬学的組成物は、活性化合物を固体賦形剤と組合せ、所望により得られた混合物を粉碎し、所望ならば、錠剤または糖衣剤のコアを得るために、適切なさらなる化合物を添加した後、顆粒の混合物をプロセシングすることを介して得られ得る。適切な賦形剤は炭水化物またはタンパク質充填剤であり、以下を含むが、それらに限定されない：ラクトース、スクロース、マンニトール、またはソルビトールを含む糖；トウモロコシ、コムギ、イネ、ジャガイモ、または他の植物由来のデンプン；メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、またはカルボキシメチルセルロースナトリウムのようなセルロース；ならびにアラビアゴムおよびトラガカントゴムを含むゴム；ならびにゼラチンおよびコラーゲンのようなタンパク質。所望ならば、架橋されたポリビニルピロリドン、寒天、アルギン酸またはその塩（例えば、アルギン酸ナトリウム）のような崩壊剤または可溶化剤が添加され得る。

糖衣剤コアは、濃縮糖溶液のような適切なコーティングとともに提供される。これはまた、アラビアガム、タルク、ポリビニルピロリドン、カルボポルゲル、ポリエチレングリコール、および/または二酸化チタン、ラツカーリー溶液、および適切な有機溶媒または溶媒混合液をも含有し得る。製品同定のため、または活性化合物の量（すなわち用量）を特徴付けるために、染料または色素が錠剤または糖衣剤に添加され得る。

経口で使用され得る薬学的製剤は、例えば、ゼラチンカプセル、ゼラチンおよびコーティング（例えば、グリセロールまたはソルビトール）よりなるソフト封着カプセルを含む。ゼラチンカプセルは、ラクトースまたは澱粉のような充填剤またはバインダー、タルクまたはステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、および所望により安定化剤と混合した活性な成分を含有し得る。ソフトカプセルでは、デコイ化合物は、安定化剤とともにまたはともなわずに、脂肪油、流動パラフィンまたは液状ポリエチレングリコールのような適切な液体に溶解または懸濁



され得る。

非経口投与用の薬学的製剤は活性化合物の水溶液を含む。注射のために、本発明の薬学的組成物は水溶液、好ましくはハンクスの溶液、リンゲル溶液、または緩衝化生理食塩水のような生理学的に適合する緩衝液中に処方され得る。水性注射懸濁物は、懸濁物の粘度を増加させる物質（例えば、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、ソルビトール、またはデキストラン）を含有し得る。さらに、活性化合物の懸濁物は、適切な油状注射懸濁物として調製され得る。適切な親油性溶媒またはビヒクルは、ゴマ油のような脂肪酸、あるいはオレイン酸エチルまたはトリグリセリドのような合成脂肪酸エステル、またはリポソームを含む。所望により、懸濁物は、高濃度溶液の製剤を可能にする安定化剤または化合物の溶解度を増加させる適切な薬剤または試薬を含有し得る。

局所または鼻孔投与のために、浸透されるべき特定のバリアに対して適切な浸透剤が製剤中で使用される。このような浸透剤は一般に当該分野で公知である。

本発明の薬学的組成物は、当該分野で公知の様式と同様の様式（例えば、従来的な混合、溶解、顆粒化、糖衣剤作製、水簇、乳化、カプセル化、包括、または凍結乾燥の手段によって）で製造され得る。

好ましくは、患部の細胞または目的とする組織の細胞内に局所投与する場合、本発明の薬学的組成物は、キャリアとして合成または天然の親水性ポリマーを含み有る。このような親水性ポリマーの例として、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリエチレングリコールが挙げられる。本発明のデコイ化合物を、適切な溶媒中のこのような親水性ポリマーと混合し、溶媒を、風乾などの方法により除去して、所望の形態、例えば、シート状に成型した後、標的部位に付与し得る。このような親水性ポリマーを含む製剤は、水分含量が少ないので、保存性に優れ、使用の際には、水分を吸収してゲル状になるので、デコイ化合物の貯留性に優れる。

このようなシートは上記の組成以外にも類似物として、セルロース、デンプン及びその誘導体あるいは合成高分子化合物などに多価アルコールを混合し硬度を



調整して形成した親水性シートも利用できる。

このようなシートは、例えば、腹腔鏡技術を用いて、腹腔鏡下で標的部位に付与され得る。現在、腹腔鏡手術は、非侵襲手法として目覚しく発展し、本発明の薬学的組成物と組み合わせることにより、非侵襲的であって、繰り返し治療が可能な疾患の処置法が提供され得る。

5

あるいは、デコイとして核酸またはその修飾体を用いる場合には、本発明の薬学的組成物は、一般に用いられている遺伝子導入法で用いられる形態、例えば、センダイウイルス等を用いた膜融合リポソーム製剤や、エンドサイトーシスを利用するリポソーム製剤等のリポソーム製剤、リポフェクトアミン（ライフテックオリエンタル社製）等のカチオン性脂質を含有する製剤、またはレトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター等を用いるウイルス製剤を用いるのが有利であり、特に、膜融合リポソーム製剤が好適である。

10

リポソーム製剤は、そのリポソーム構造体が、大きな1枚膜リポソーム（LUV）、多重膜リポソーム（MLV）、小さな一枚膜リポソーム（SUV）のいずれであってもよい。その大きさも、LUVでは200から1000nm、MLVでは400～3500nm、SUVでは20～50nm程度の粒子系をとり得るが、センダイウイルス等を用いる膜融合リポソーム製剤の場合は粒子系200～1000nmのMLVを用いるのが好ましい。

15

リポソームの製造方法は、デコイが保持されるものであれば特に限定されるものではなく、慣用の方法、例えば、逆相蒸発法（Szoka、Fら、Biophys. Acta, Vol. 601 559 (1980)）、エーテル注入法（Deamer、D. W. : Ann. N. Y. Acad. Sci., Vol. 308 250 (1978)）、界面活性剤法（Brunner, Jら: Biophys. Acta, Vol. 455 322 (1976)）等を用いて製造することができる。

リポソーム構造を形成するための脂質としては、リン脂質、コレステロール類



や窒素脂質等が用いられるが、一般に、リン脂質が好適であり、ホスファチジルコリン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジルイノシトール、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジン酸、カルジオリピン、スフィンゴミエリン、卵黄レシチン、大豆レシチン、リゾレシチン等の天然リン脂質、あるいはこれらを定法に従って水素添加したものの他、ジセチルホスフェート、ジステアロイルホスファチジルコリン、ジパルミトイルホスファチジルコリン、ジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン、ジパルミトイルホスファチジルセリン、エレオステアロイルホスファチジルコリン、エレオステアロイルホスファチジルエタノールアミン、エレオステアロイルホスファチジルセリン等の合成リン脂質を用いることができる。

これらのリン脂質を含む脂質類は単独で用いることができるが、2種以上を併用することも可能である。このとき、エタノールアミンやコリン等の陽性基をもつ原子団を分子内にもつものを用いることにより、電気的に陰性のデコイ核酸の結合率を増加させることもできる。これらリポソーム形成時の主要リン脂質の他に一般にリポソーム形成用添加剤として知られるコレステロール類、ステアリルアミン、 α -トコフェロール等の添加剤を用いることもできる。

このようにして得られるリポソームには、患部の細胞または目的とする組織の細胞内への取り込みを促進するために、膜融合促進物質、例えば、センダイウイルス、不活化センダイウイルス、センダウイルスから精製された膜融合促進タンパク質、ポリエチレンジルコール等を添加することができる。

リポソーム製剤の製造法の例を具体的に説明すると、例えば、前記したリポソーム形成物質を、コレステロールとともにテトラヒドロフラン、クロロホルム、エタノール等の有機溶媒に溶解し、これを適切な容器に入れて減圧下に溶媒を留去して容器内面にリポソーム形成物質の膜を形成する。これにデコイを含有する緩衝液を加えて攪拌し、得られたリポソームにさらに所望により前記の膜融合促進物質を添加した後、リポソームを単離する。こりようにして得られるデコイを



含有するリポソームは適当な溶媒中に懸濁させるか、または一旦凍結乾燥したものを、適当な溶媒に再分散させて治療に用いることができる。膜融合促進物質はリポソーム単離後、使用までの間に添加してもよい。

本発明の薬学的組成物は、デコイ化合物が意図される目的を達成するのに有効な量で含有される組成物を含む。「治療的有効量」または「薬理学的有効量」は当業者に十分に認識される用語であり、意図される薬理学的結果を生じるために有効な薬剤の量をいう。従って、治療的有効量は、処置されるべき疾患の徵候を軽減するのに十分な量である。所定の適用のための有効量（例えば、治療的有効量）を確認する1つの有用なアッセイは、標的疾患の回復の程度を測定することである。実際に投与される量は、処置が適用されるべき個体に依存し、好ましくは、所望の効果が顕著な副作用をともなうことなく達成されるように最適化された量である。治療的有効用量の決定は十分に当業者の能力内にある。

いずれの化合物についても、治療的有効用量は、細胞培養アッセイまたは任意の適切な動物モデルのいずれかにおいて、最初に見積もられ得る。動物モデルはまた、所望の濃度範囲および投与経路を達成するために用いられる。次いで、このような情報を用いて、ヒトにおける投与に有用な用量および経路を決定することができる。

治療的有効量とは、疾患の徵候または状態を軽減するデコイ化合物の量をいう。このような化合物の治療効果および毒性は、細胞培養または実験動物における標準的な薬学的手順（例えば、ED₅₀、集団の50%において治療的に有効な用量；およびLD₅₀、集団の50%に対して致死的である用量）によって決定され得る。治療効果と毒性効果との間の用量比は治療係数であり、それは比率ED₅₀／LD₅₀として表され得る。大きな治療係数を呈する薬学的組成物が好ましい。細胞培養アッセイおよび動物実験から得られたデータが、ヒトでの使用のための量の範囲を公式化するのに使用される。このような化合物の用量は、好ましくは、毒性をほとんどまたは全くともなわないED₅₀を含む循環濃度の範囲内



にある。この用量は、使用される投与形態、患者の感受性、および投与経路に依存してこの範囲内で変化する。一例として、デコイの投与量は、年齢その他の患者の条件、疾患の種類、使用するデコイの種類等により適宜選択されるが、例えば、血液内投与、筋肉内投与、関節内投与では、一般に、1回あたり、 $1 \mu g \sim 100 mg$ を1日1回から数回投与することができる。

正確な用量は、治療されるべき患者を考慮して、個々の臨床医によって選択される。用量および投与は、十分なレベルの活性部分を提供するか、または所望の効果を維持するように調整される。考慮され得るさらなる因子としては、疾患状態の重症度（例えば、腫瘍のサイズおよび位置；患者の年齢、体重、および性別；投与の食餌制限時間、および頻度、薬物組合せ、反応感受性、および治療に対する耐性／応答）が挙げられる。特定の製剤の半減期およびクリアランス速度に応じて、持続作用性薬学的組成物は、3～4日毎に、毎週、または2週間に1回、投与され得る。特定の用量および送達の方法に関するガイダンスは当該分野で公知の文献に提供されている。

この様にして得られたデコイを主成分として含有する医薬品は、疾患の種類、使用するデコイの種類等により各種の方法で投与することができ、例えば、虚血性疾患、炎症性疾患、自己免疫疾患および癌の転移・浸潤、悪疫質においては血管内投与、疾患部位に塗布、疾患部位内に投与または疾患部位に血管内投与等することができる。さらに具体的な例としては、例えば、臓器梗塞等でP T C Aを行う場合には、同時またはその前後に患部血管に投与することができ、また臓器移植等では移植する臓器を予め本願で用いられる製剤で処置して用いてもよい。また、例えば、慢性関節リウマチ等では、直接関節内に注入して用いることができる。あるいは、喘息等では、噴霧式吸入器（M D I ・ B D I）、ネブライザーなどをを利用して吸入させることにより投与することができる。

以下に、実施例に基づいて本発明を説明するが、以下の実施例は、例示の目的のみに提供される。従って、本発明の範囲は、上記発明の詳細な説明にも下記実



施例にも限定されるものではなく、特許請求の範囲によってのみ限定される。

実施例

以下実施例を用いて本発明を説明するが、これらの実施例は、本発明の例示であって、限定を意図するものではない。

(実施例 1 : ヒト大動脈瘤サンプルにおける $ets-1$ の過剰発現)

$ets-1$ は、MMP遺伝子の発現を制御する転写因子の1つである。手術により除去（摘出）された大動脈瘤サンプルをホルマリン固定し、 $ets-1$ に対する抗体（Santa Cruz Biotechnology社(USA)）を用い、常法にて免疫染色を行った。図1、2および3に示すように、いずれの大動脈瘤サンプルにおいても、主として外膜に $ets-1$ の存在が認められた。

図1の左は、ヒト大動脈起始部の光学顕微鏡写真（ $\times 100$ 倍）、そして図1の右は、図1の左の矩形の区画の同拡大写真（ $\times 400$ 倍）である。

図2の左は、ヒト大動脈最拡張部の光学顕微鏡写真（ $\times 100$ 倍）、そして図2の右もまた、ヒト大動脈最拡張部の別の部分の蛍光顕微鏡写真（ $\times 200$ 倍）である。

図3は、ヒト大動脈最拡張部の光学顕微鏡写真（ $\times 400$ 倍）であって、図2の矩形で示した区画の拡大写真である。図3の左は、図2の右の大きい方の矩形の区画の同拡大写真（ $\times 400$ 倍）であり、そして図3の右は、図2の右の小さい方の矩形の区画の同拡大写真（ $\times 400$ 倍）である。

(実施例 2 : オーガンカルチャー（組織培養系）におけるデコイ核酸の効果)

手術時に除去された大動脈瘤サンプルを用い、オーガンカルチャー（組織培養系）でデコイ核酸導入によるMMP遺伝子の発現抑制効果を試験した。

ヒト大動脈瘤を手術時に取り出し、 2 mm^2 のサンプルに分割した。 $100\mu\text{M}$ のそれぞれのデコイあるいはスクランブルデコイ（共に北海道システムサイエンス社にて合成）を含む10%コラーゲルに室温で1時間浸した。その後ゲル

の付着したまま 24 ウェルプレートに入れ、培養液 (D u l b e c c o ' s m o d i f i e d E a g l e ' s m e d i u m, 1% F C S) を 1. 5 ml ずつ入れた。以降、37°C インキュベーターにて培養した。培養液は 24 時間後にウォッシュアウトし、新しい培養液に変更する。さらに 48 時間後、培養液中の MMP 1、MMP 9 を常法に従い、E L I S A (A m e r s h a m p h a r m a c i a b i o t e c h 社製) にて測定した。

5 使用したデコイ：

N F - κ B デコイ (配列番号 1)

5' - C C T - T G A - A G G - G A T - T T C - C C T - C C - 3'

10 3' - G G A - G G G - A A A - T C C - C T T - C A A - G G - 5'

N F - κ B スクランブルデコイ (配列番号 2)

5' - T T G - C C G - T A C - C T G - A C T - T A G - C C - 3'

3' - G G C - T A A - G T C - A G G - T A C - G G C - A A - 5'

e t s デコイ (配列番号 3)

15 5' - A A T - T C A - C C G - G A A - G T A - T T C - G A - 3'

3' - T T A - A G T - G G C - C T T - C A T - A A G - C T - 5'

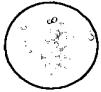
e t s スクランブルデコイ (配列番号 4)

5' - G G A - A T A - C A T - C G A - C C T - G T T - A A - 3'

3' - C C T - T A T - G T A - G C T - G G A - C A A - T T - 3'

20

結果を、図 4 および図 5 に示す。図 4 および図 5 の縦軸は、450 nm における吸光度を示し、横軸の u n t r e a t 、 N F s d 、 N F 、 e t s - s d および e t s は、それぞれ、核酸試薬を含まず (コントロール) 、 N F - κ B スクランブルデコイ、 N F - κ B デコイ、 e t s スクランブルデコイ、および e t s デコイをそれぞれ示す。図中の各棒の上部に記載の横棒は標準偏差を表し、そして図中の各棒の間をつなぐ線の上にある P は、この線でつながれる群間の比較に用い



た有意水準を表し、棒の上にある**はその群の平均値がコントロールに対して統計的に有意水準1%（図4）または5%（図5）で平均値の差が有意であることを示す（F i s h e r 検定）。

図4および図5に示されるように、e t s デコイ投与群において、MMP 1 およびMMP 9 の產生は、コントロール群およびe t s スクランブルデコイ投与群に比べ有意に抑制された。そしてNF- κ B デコイ投与群においてもまた、MMP 1 およびMMP 9 の產生は、コントロール群およびNF- κ B スクランブルデコイ投与群に比べ有意に抑制された。

（実施例3：オーガンカルチャー（組織培養系）におけるデコイ核酸およびダブルデコイ核酸の濃度依存的効果）

デコイ核酸として100 μ Mおよび600 μ M濃度のNF- κ B デコイ、および100 および600 μ M濃度の以下に示す構造のダブルデコイおよびダブルスクランブルデコイを用いた点を除いて、実施例2と同様の方法でオーガンカルチャー（組織培養系）におけるデコイ核酸添加によるMMP遺伝子の発現抑制効果を試験した。

使用したダブルデコイ（配列番号5）

5' -ACC-GGA-AGT-AGA-AGG-GAT-TTC-CCT-CC- 3'

3' -TGG-CCT-TCA-TCT-TCC-CTA-AAG-GGA-GG- 5'

ダブルスクランブルデコイ（配列番号6）

5' -GCA-ACC-CCT-TAG-GTT-CTG-AGA-GAC-GA- 3'

3' -CGT-TGG-GGA-ATC-CAA-GAC-TCT-CTG-CT- 5'

結果を、図6および図7に示す。図6および図7の縦軸は、450 nmにおける吸光度を示し、横軸のuntreat、NFsd、NF100、NF600、DDsd、DD100およびDD600は、それぞれ、核酸試薬を含まず（コントロール）、NF- κ B デコイ100 μ M、NF- κ B デコイ600 μ M、ダブルスクランブルデコイ、ダブルデコイ100 μ M、およびダブルデコイ600



μM をそれぞれ示す。図中の各棒の上部に記載の横棒は、標準偏差を表し、そして図中の各棒の間をつなぐ線の上にあるPは、この線でつながれる群間の比較に用いた有意水準を表し、*および**は、コントロールに対して統計的にそれぞれ有意水準5%および1%で平均値の差が有意であることを、#および#はそれぞれNF100およびNF600群の結果に対して有意水準5%で平均値の差が有意であることをそれぞれ示す(Fisher検定)。

図6および図7に示されるように、NF- κ B投与群において、MMMP1およびMMMP9の產生は、コントロール群およびNF- κ Bスクランブルデコイ投与群に比べ有意に抑制され、そしてその効果は濃度依存性であった。そしてダブルデコイ投与群においてもまた、MMMP1およびMMMP9の產生は、ダブルデコイ投与群において、スクランブルデコイ投与群に比べ有意に抑制された。そしてダブルデコイの効果は、NF- κ Bデコイ投与群に比べより効果的であった。

(実施例4：インビボにおけるデコイ核酸の効果)

ラットを用い、インビボにおけるデコイ核酸付与によるMMMP遺伝子の発現抑制効果を試験した。

ラット(SDラット、12週令)を麻酔下に開腹し、以下の組成のADフィルム(大きさ1cm×1cm)をほぼ1cmの長さにわたって、腹部大動脈に周囲に巻き付けた。腹部を縫合した後通常の状態で飼育し、3日後に再び開腹し、血管を取り出して蛍光顕微鏡により解析した。

ADフィルムの組成：ヒドロキシプロピルセルロース 150～400cps (HPC-M) 7.3mg/4cm²；ポリエチレングルコール400 (PEG) 7.3mg/4cm²；FITC-標識デコイ 100nmol/cm²。ADフィルムの調製方法：まず、上記のヒドロキシプロピルセルロースおよびポリエチレングルコールを、それぞれ100%エタノールに溶解し混合した。この混合液に、400nmolのFITC-標識デコイを加えて溶解した後、風乾し、最終的に4cm²のシートに成型した。



図8および図9に結果を示す。図8は、腹部大動脈壁の部分断面の蛍光顕微鏡写真 ($\times 200$ 倍) である。図8の左は、FITC-標識デコイを含まないADフィルムを巻き付けたコントロールラットの腹部大動脈壁の断面の蛍光顕微鏡写真、図8の右は、FITC-標識デコイを含むADフィルムを巻き付けたラットの同蛍光顕微鏡写真である。図9は、腹部大動脈壁の断面および部分断面の蛍光顕微鏡写真である。図9の左は、100倍、そして図9の右は、200倍の拡大倍率の蛍光顕微鏡写真である。

図8および図9に示されるように、FITC-標識デコイを含むADフィルムを巻き付けたラットの腹部大動脈壁では、血管外膜に強い緑色および中膜の一部に緑色の蛍光が観察され、デコイが血管外膜および中膜の一部に導入されたことが確認された。

(実施例5：大動脈瘤モデルラットにおけるデコイ核酸の効果)

大動脈瘤モデルラットが確立されている (Indomethacin prevents elastase-induced abdominal aortic aneurysms in the rat. Holmes DR, Petrinec D, Wester W, Thompson RW, Reilly JM. J Surg Res. 1996 Jun; 63 (1) : 305-9)。このモデルはエラスターをラット大動脈内に150cmH₂Oの圧力で30分間貯留させて作成される。

図10に示されるように、大動脈瘤モデルラットにおいてスクランブルデコイ投与群では大動脈断面積は顕著に増大していく。しかし、NF- κ BとEtsのダブルデコイ投与群ではその増大は2週後(図では横軸2W)、3週後(図では横軸3W)で有意に抑制された。

(実施例6：好酸球異常に対する効果：喘息モデルラットに対するNF- κ Bデコイ治療)

次に、喘息モデルを作製し、本発明のデコイの効果を実証した。喘息モデルは、
基本的には、Eur J Pharmacol. 1995 Dec 7;293(4):401-12に記載される方法に
基づいて作製した。

(動物および感作の方法)

5 Brown Norway ラット (8週齢～10週齢；体重200～300 g) は、日本チャールズ・リバー株式会社から得た。ラットは、大阪大学で規定される動物愛護精神にのっとった規定を遵守して飼育および実験した。このラットに、1mlのpyrogenフリーの生理食塩水中に4mgの水酸化アルミニウムとともに1mgのオボアルブミン (OVA; Sigma, grade V) 含む溶液を頸部皮下注射をして感作させた。アジュバントとして、Bordetella pertussis ワクチン (3×10^9 の熱不活化した細菌を含む) を腹腔内注射した。対照として、オボアルブミンを含まない点以外は同一の溶液をラットに腹腔内注射したものとネガティブコントロールとした。

(センダイウイルスエンベロープベクターの調製)

15 センダイウイルス (HVJ) エンベロープベクター (HVJ-E) は以下のとおりに調製した。手短に述べると、ウイルス懸濁液 (1.0×10^4 の赤血球凝集単位 (HAU)) を、UV照射 (99 mJ/cm^2) を行って不活化し、デコイオリゴヌクレオチド ($200 \mu \text{g}$) および0.3% Triton-Xと混合した。遠心分離後、1mlの平衡塩溶液 (BSS; 10mM Tris-C1, pH 7.5、137mM NaCl、および5.4mM KCl) で不活化したウイルス懸濁液を洗浄して、界面活性剤および取り込まれなかったオリゴヌクレオチドを取り除いた。遠心分離後、エンベロープベクターを適量のリン酸緩衝化生理食塩水 (PBS) 中に懸濁した。このベクターは、使用するまで4°Cで保存した。

25 (実験手順)

感作後12日で、ラットを以下のように処置した。口腔気管支注入後、(1)



コントロールとしての生理食塩水 0. 5 ml ; (2) 500 μ g の裸のデコイ / 0. 5 ml ; (3) 1. 0 \times 10⁴ HAU / 0. 5 ml の HVJ-E で処理したデコイ 200 μ g ; (4) 2. 5 \times 10⁴ HAU / 0. 5 ml の HVJ-E で処理したデコイ 500 μ g ; および (5) 2. 5 \times 10⁴ HAU / 0. 5 ml の HVJ-E を、それぞれ投与した。14日目にラットを 5% のエアゾール化したオボアルブミンでネブライザー (PAR I turbo) を用いて 5 分間チャレンジした。気流の速さは 7 ~ 8 リットル / 分の空気であった。これにより気道過敏を誘発した。この実験手順のフローチャートを、図 1-1 に示す。

(デコイの導入)

デコイは、経鼻吸入 (エアゾールによる) または挿管 (液体、エアゾール、レスピレータ) を用いてラットに投与した。

第一の実験において、デコイは、2 mg \times 1 回、1 mg \times 2 回または 2 mg \times 2 回 (エアゾール) 、あるいは 0. 5 mg \times 1 回 (液体投与) 投与した。

第二の実験において、デコイは、HVJ-E を用いて上述のように調製したものを利用して投与した。

(気管支肺胞洗浄 (BAL))

BAL 流体をオボアルブミンチャレンジの後 24 時間で収集した。ラットを腹腔内にペントバルビタールナトリウムを過剰量投与することによって安楽死させた。BAL を 5 ml のリン酸緩衝化生理食塩水 (PBS ; 137 mM NaCl, 20 mM リン酸ナトリウム緩衝剤 pH 7. 4, 2. 7 mM KCl) を用いて 4 回行った。BAL 流体の総細胞数は、赤血球計を用いて決定した。示差細胞計数を、Diff-Quick 染色 (IBMC Inc., Chicago, IL : Catalog # K7124) で染色した 300 細胞より多い細胞を計数することによって行った。

(結果)

図 1-2 に、第一の実験における BAL 中の好酸球の % の挙動を示す。オボアル



5 プミンチャレンジによって、統計学的に有意に好酸球増大が見出されることがわかった ($p < 0.01$)。このチャレンジに対して、エアゾール処置および液体処置を行ったところ、それぞれ統計学的に有意な好酸球増大の抑制が見出された (いずれも $p = 0.08$)。従って、投与方法にかかわらず、本発明のデコイは、喘息のような好酸球の異常疾患に対して効果を有することが実証された。

10 次に、図13に、別の投与方法としてセンダイウイルスを用いた場合の本発明のデコイの効果を示す。オボアルブミンチャレンジに対して、上述のHVJ-E デコイ処方物による処置を行ったところ、裸のデコイよりもHVJ-Eのほうが顕著に高い効果が示された (図14も参照)。また、HJV-E処方物のうち、量を2.5倍にしたものもまた、統計学的に有意に高い治療効果が示された。H JV-Eによる効果は、ベクター自体の効果ではないことが示されたことから、本発明では、HVJ-Eでの処方がより治療効果が高いことが明らかになった。

(実施例7：改変体での処置)

15 次に、大動脈瘤および喘息のモデルラットにおいて、上述の実施例で用いたデコイに代えて、改変体を用いて同様の効果が示されるかどうかを確かめた。ここでは、改変体としてNF- κ Bのコンセンサス配列であるGGG (A/G) (C/A/T) T (T/C) (T/C) (C/A/T) C (配列番号13) を使用した。配列表中のrは、AまたはGを示し、hはCまたはAまたはTを示し、yはTまたはCを示す。したがって、NF- κ Bに認識される配列であればどのようなものであっても、NF- κ Bまたはetsによって制御される遺伝子の発現に起因する疾患、障害および/または状態、ならびに好酸球の異常に関連する疾患、障害および/または状態を処置または予防することができる事が示された。

20 25 使用したデコイが異なる点以外は上記実施例に記載されるのと同様に実験を行ったところ、大動脈瘤および喘息のいずれの場合でも、治療および予防効果が示されたことが明らかになった。従って、本発明は、特定のデコイに限定されず、生物学的活性 (すなわち、転写因子配列との結合活性) が維持される限り、同様

の治療および予防効果を有することが示された。

産業上の利用可能性

N F - κ B または e t s に制御される遺伝子の発現に起因する疾患あるいは好
5 酸球異常に関連する疾患を処置する薬学的組成物およびそれに用いるキャリアー
が提供される。本発明の薬学的組成物の局所投与は、非侵襲的であって、繰り返
し可能な治療方法を提供する。



請求の範囲

1. NF- κ B または et s によって制御される遺伝子の発現に起因する疾患、
障害および／または状態を治療および／または予防するための薬学的組成物であ
5 って、

少なくとも 1 つのデコイ、および、
薬学的に受容可能なキャリア
を包含する、組成物。

2. 前記少なくとも 1 つのデコイが、NF- κ B のデコイまたはその誘導体、
10 改変体もしくはフラグメントであり、該誘導体、改変体もしくはフラグメントが、
生物学的活性を有する、請求項 1 に記載の組成物。

3. 前記少なくとも 1 つのデコイが、NF- κ B のデコイである、請求項 1 に
記載の組成物。

4. 前記少なくとも 1 つのデコイが、et s のデコイである、請求項 1 に記載
15 の組成物。

5. 前記少なくとも 1 つのデコイが、NF- κ B のデコイおよび et s のキメ
ラデコイである、請求項 1 に記載の組成物。

6. 前記疾患が、脳動脈瘤、癌、マルファン症候群、大動脈解離、血管形成術
後再狭窄、慢性関節リウマチ、喘息、アトピー性皮膚炎、腎炎、腎不全または
20 プラークラプチャーである、請求項 1 に記載の組成物。

7. 前記薬学的に受容可能なキャリアが親水性ポリマーである、請求項 1 に記
載の組成物。

8. 前記薬学的に受容可能なキャリアがリポソームである、請求項 1 に記載の
組成物。

25 9. 好酸球の異常に関連する疾患、障害および／または状態を、治療および／
または予防するための薬学的組成物であって、

少なくとも1つのデコイ、および
薬学的に受容可能なキャリアを含む、
組成物。

10. 前記少なくとも1つのデコイが、NF- κ Bのデコイまたはその誘導体、
5 改変体もしくはフラグメントであり、該誘導体、改変体もしくはフラグメントが、
生物学的活性を有する、請求項9に記載の組成物。

11. 前記少なくとも1つのデコイが、NF- κ Bのデコイである、請求項9
に記載の組成物。

12. 前記少なくとも1つのデコイが、etsのデコイである、請求項9に記
10 載の組成物。

13. 前記少なくとも1つのデコイが、NF- κ Bのデコイおよびetsのキ
メラデコイである、請求項9に記載の組成物。

14. 前記疾患が、喘息、アレルギー性疾患、皮膚疾患および真菌症からなる
群より選択される少なくとも1つの疾患である、請求項9に記載の組成物。

15. 前記疾患が、気管支喘息、小児喘息、アレルギー性喘息、アトピー性喘
息、ステロイド不応性喘息、非アレルギー性喘息、内因性喘息、外因性喘息、ア
スピリン喘息、心臓性喘息および感染型喘息からなる群より選択される喘息を含
む、請求項9に記載の組成物。

16. 前記薬学的に受容可能なキャリアが親水性ポリマーである、請求項9に
20 記載の組成物。

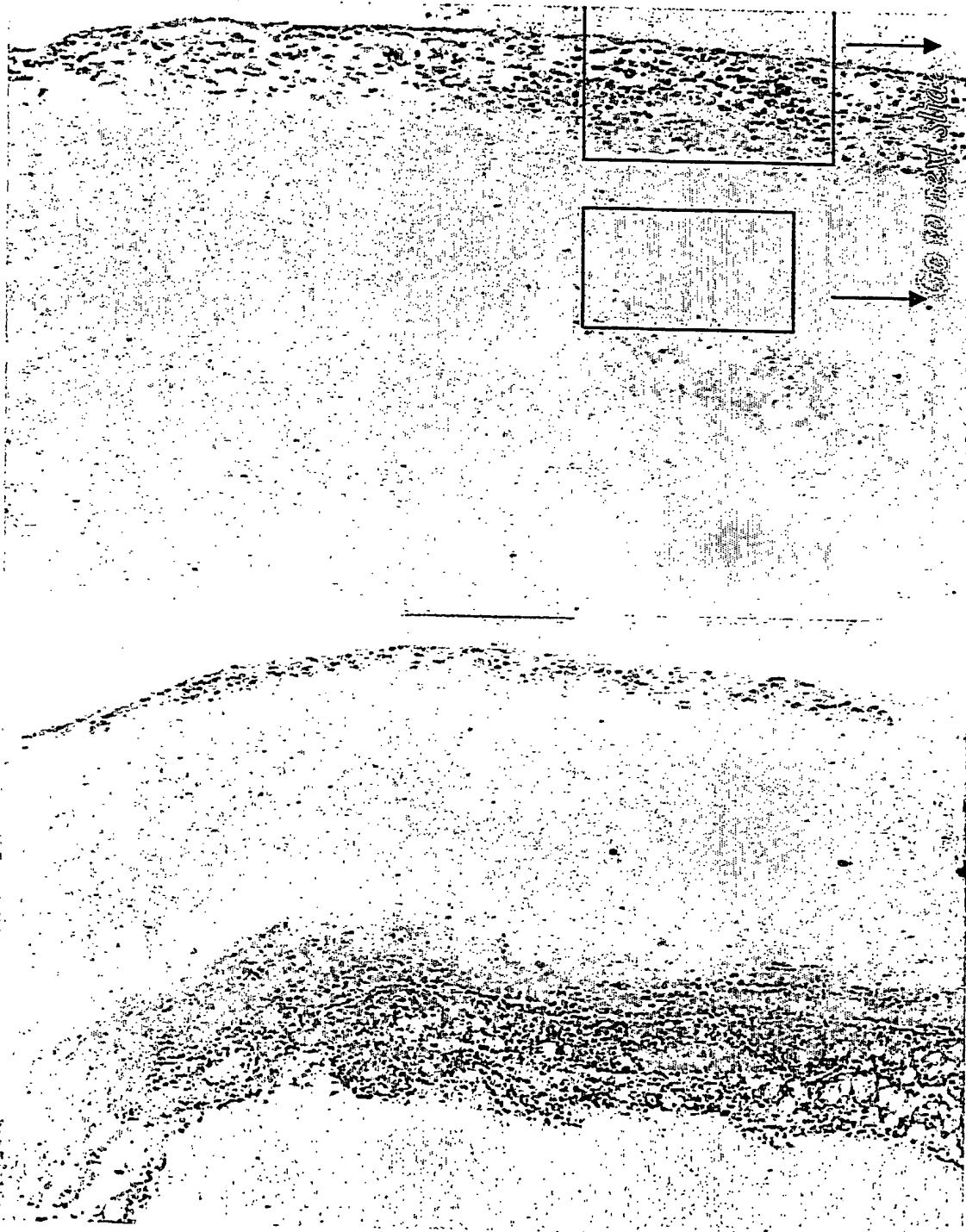
17. 前記薬学的に受容可能なキャリアがリポソームである、請求項9に記載
の組成物。

要約書

NF- κ B または e_ts に制御される遺伝子の発現に起因する疾患、障害および／または状態を治療および予防するための薬学的組成物であって、少なくとも
5 1つのデコイ、および薬学的に受容可能なキャリアを含む組成物。上記少なくとも1つのデコイは、NF- κ B のデコイ、e_ts のデコイ、または NF- κ B のデコイおよび e_ts のキメラデコイである。上記疾患は、脳動脈瘤、癌、マルファン症候群、大動脈解離、血管形成術後再狭窄、慢性関節リウマチ、喘息、アト
10 ピー性皮膚炎、腎炎、腎不全またはプラークラプチャーである。あるいは、上記疾患は好酸球の異常にに関する疾患（例えば、喘息、血液疾患、アレルギー性疾患、寄生虫疾患）である。上記薬学的に受容可能なキャリアは、親水性ポリマー、リポソームなどであり得る。



11



2

図 3

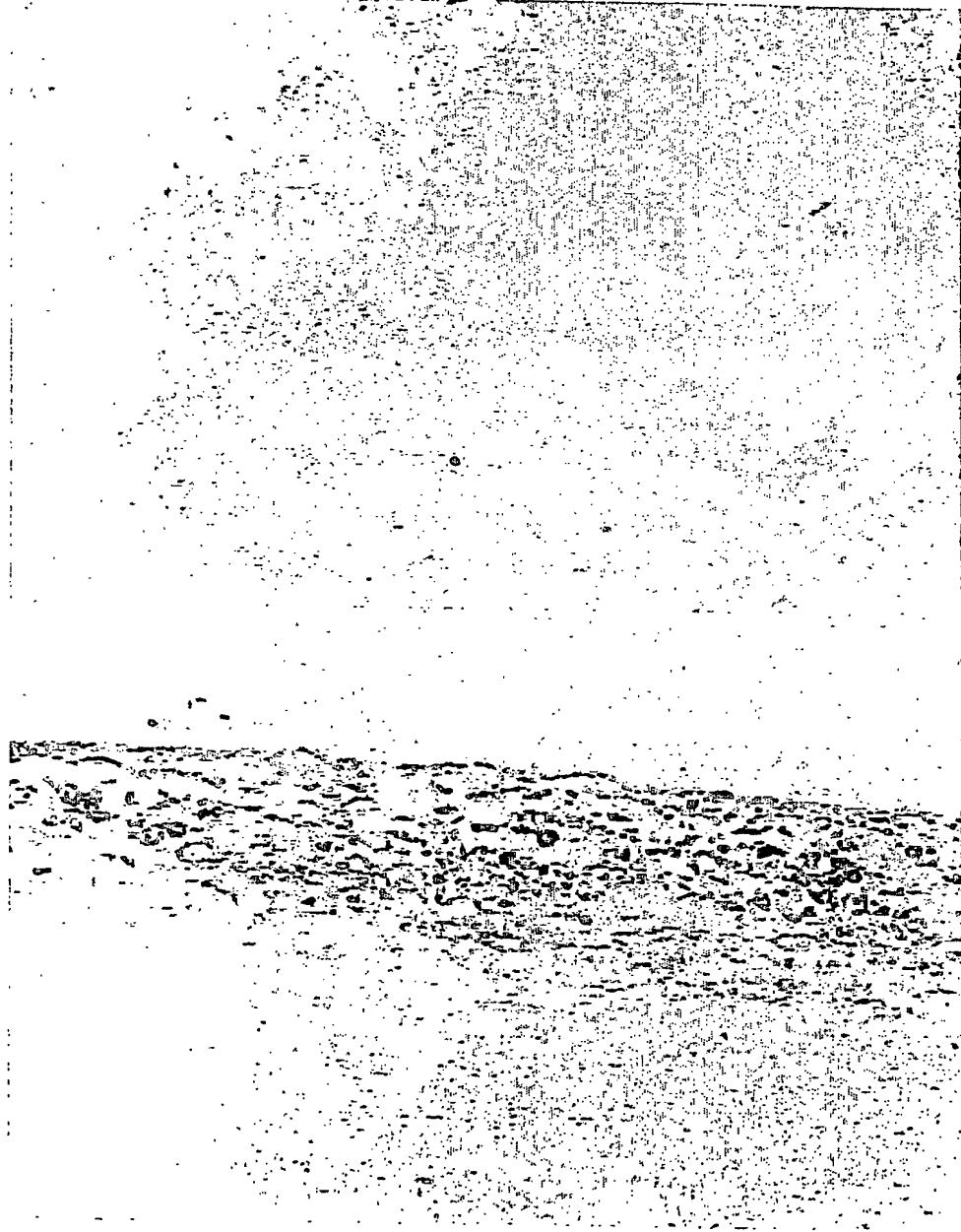


図 4

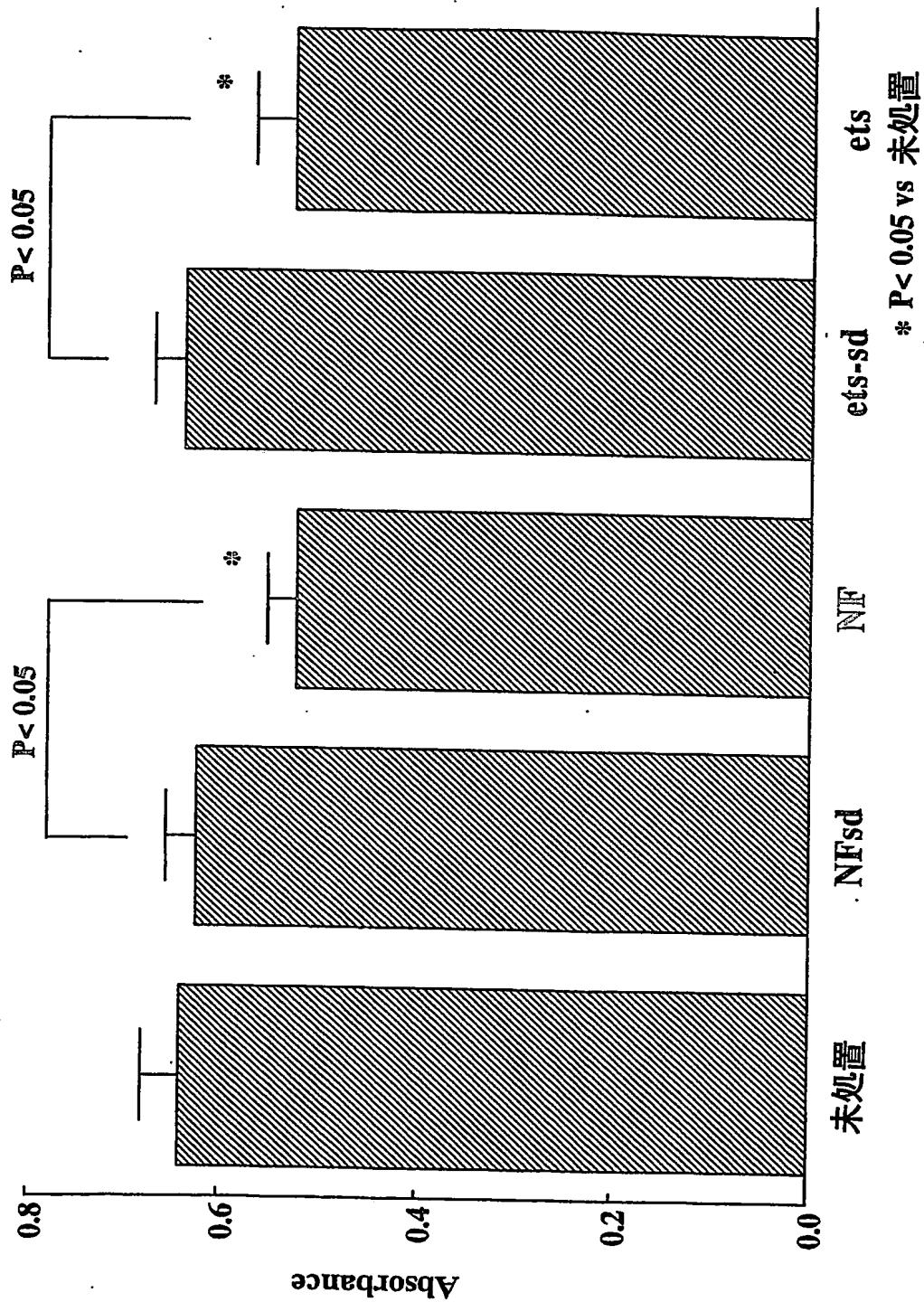


图 5

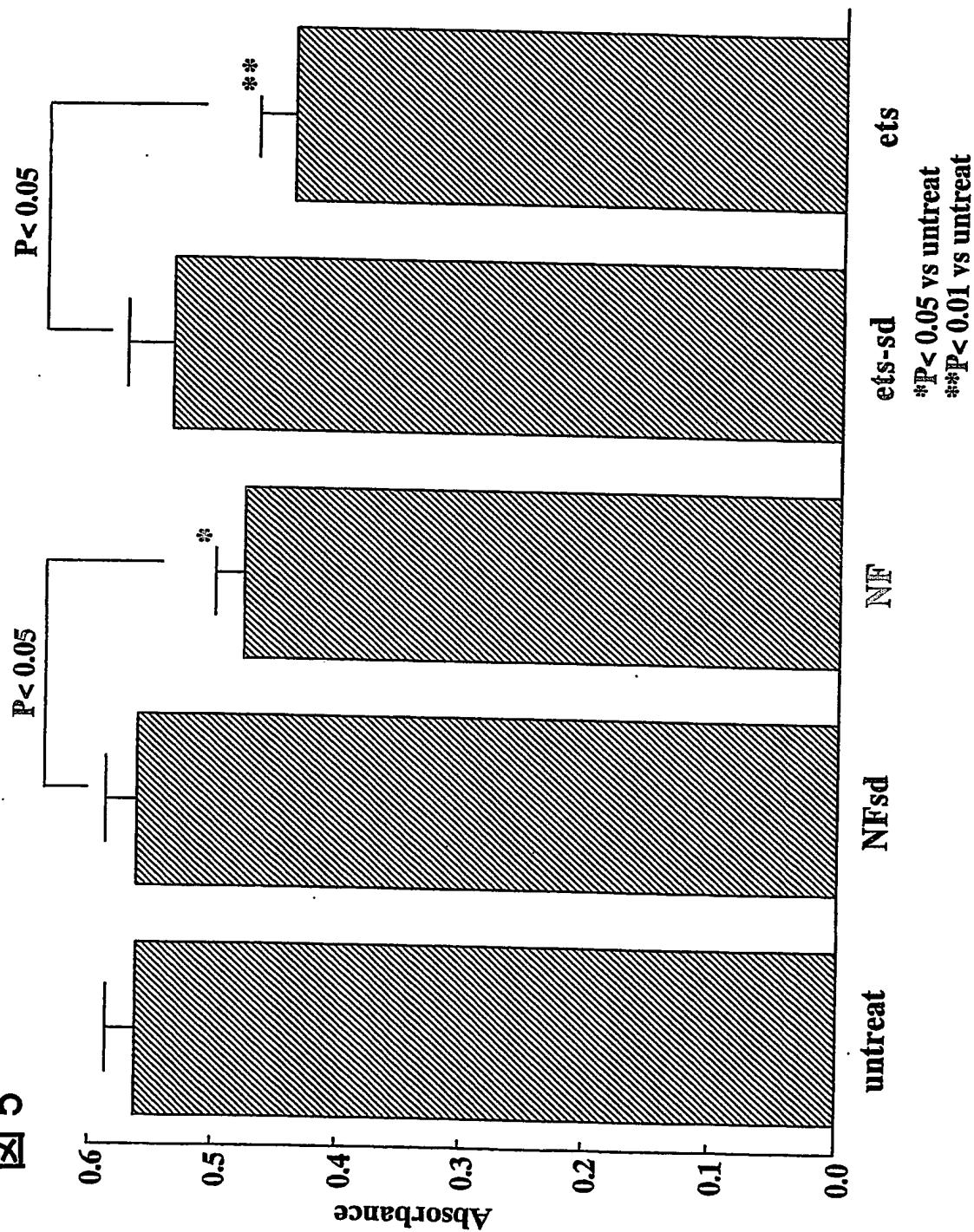


图 6

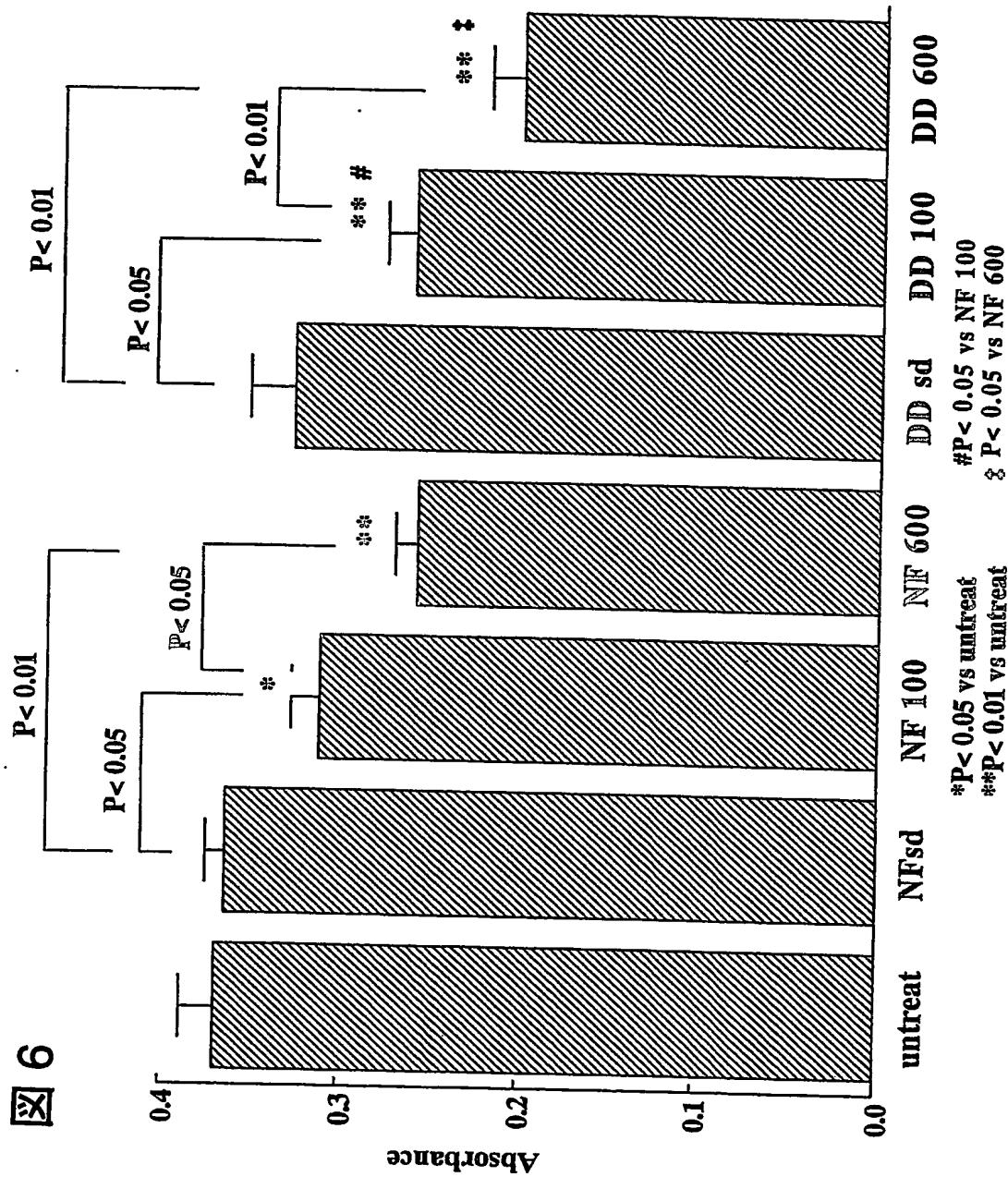
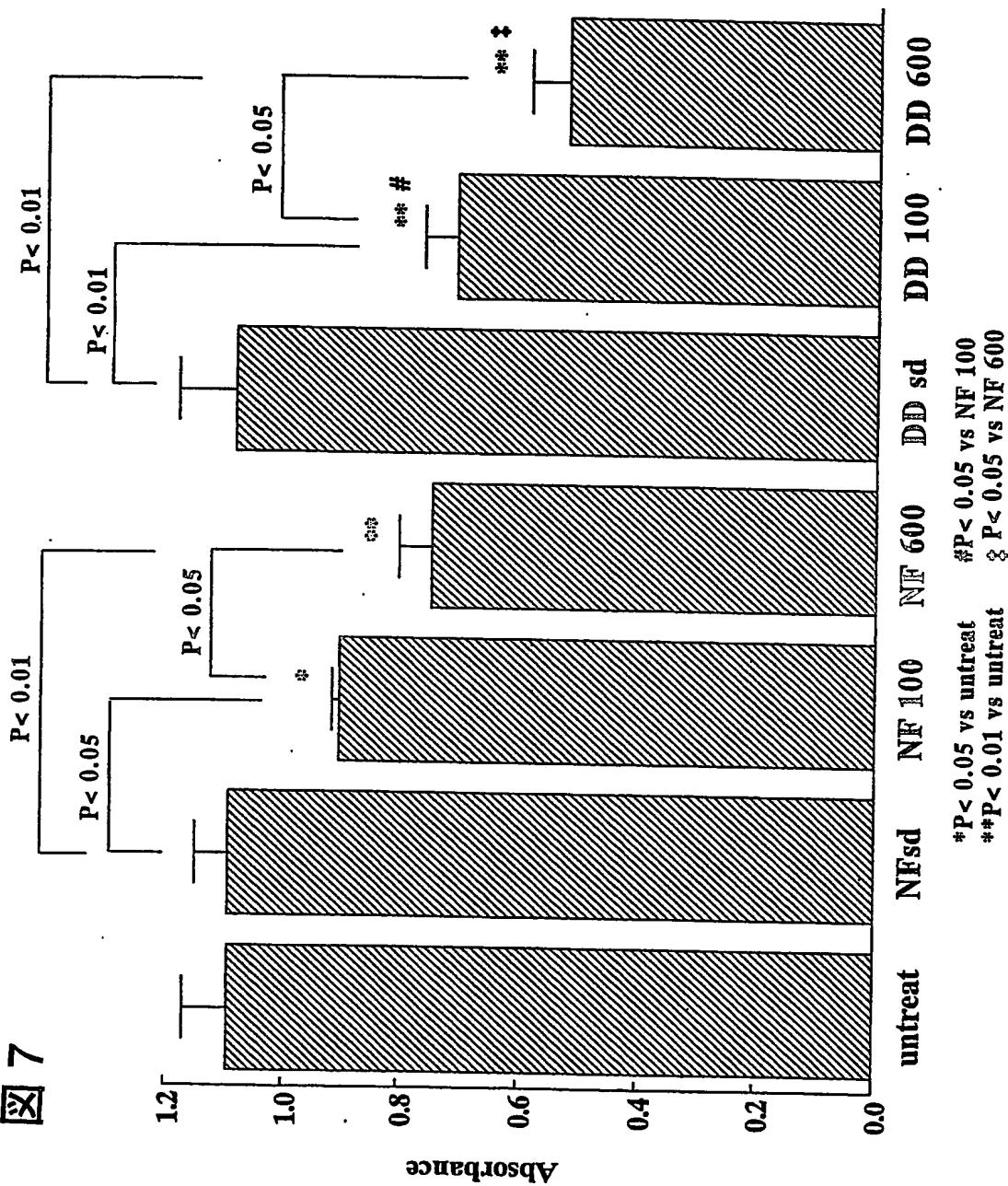
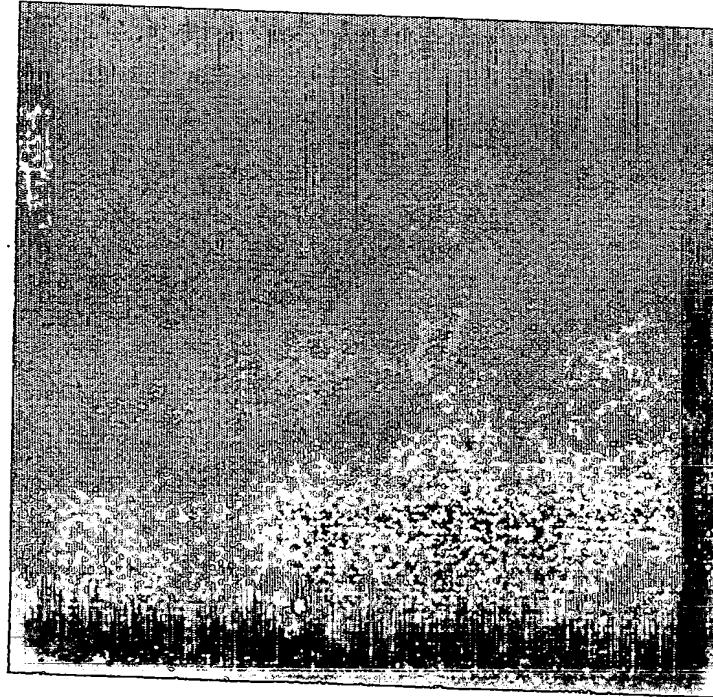


图 7



コントロール



FITC-デコイ導入

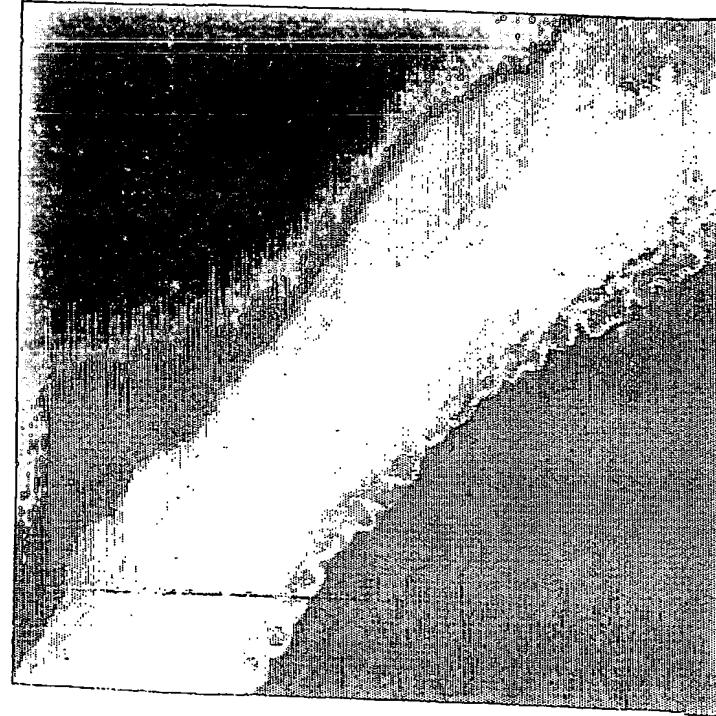


图 9

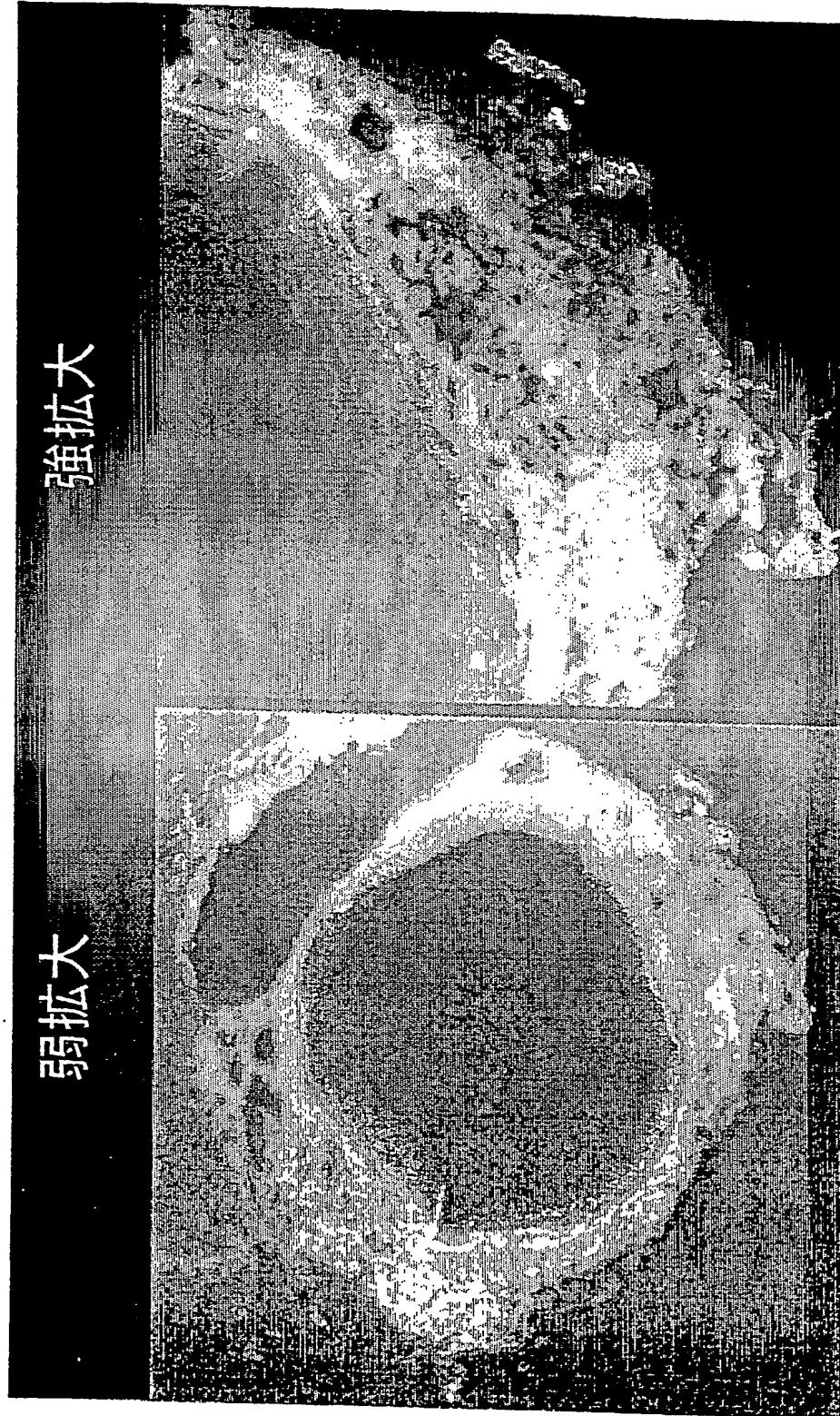


図 10

大動脈瘤モデルラットにおけるダブルデコイの効果

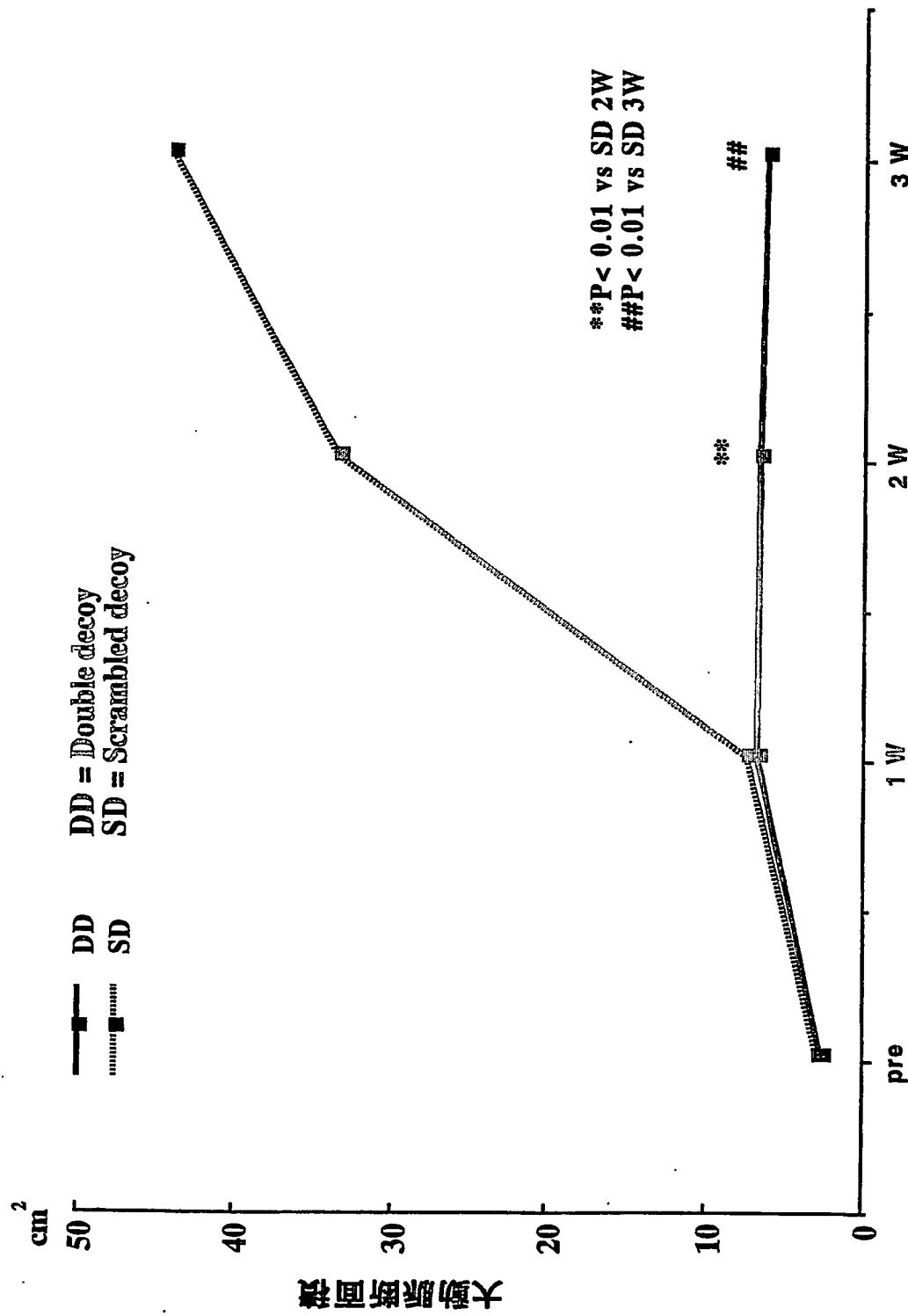


図11A

方法

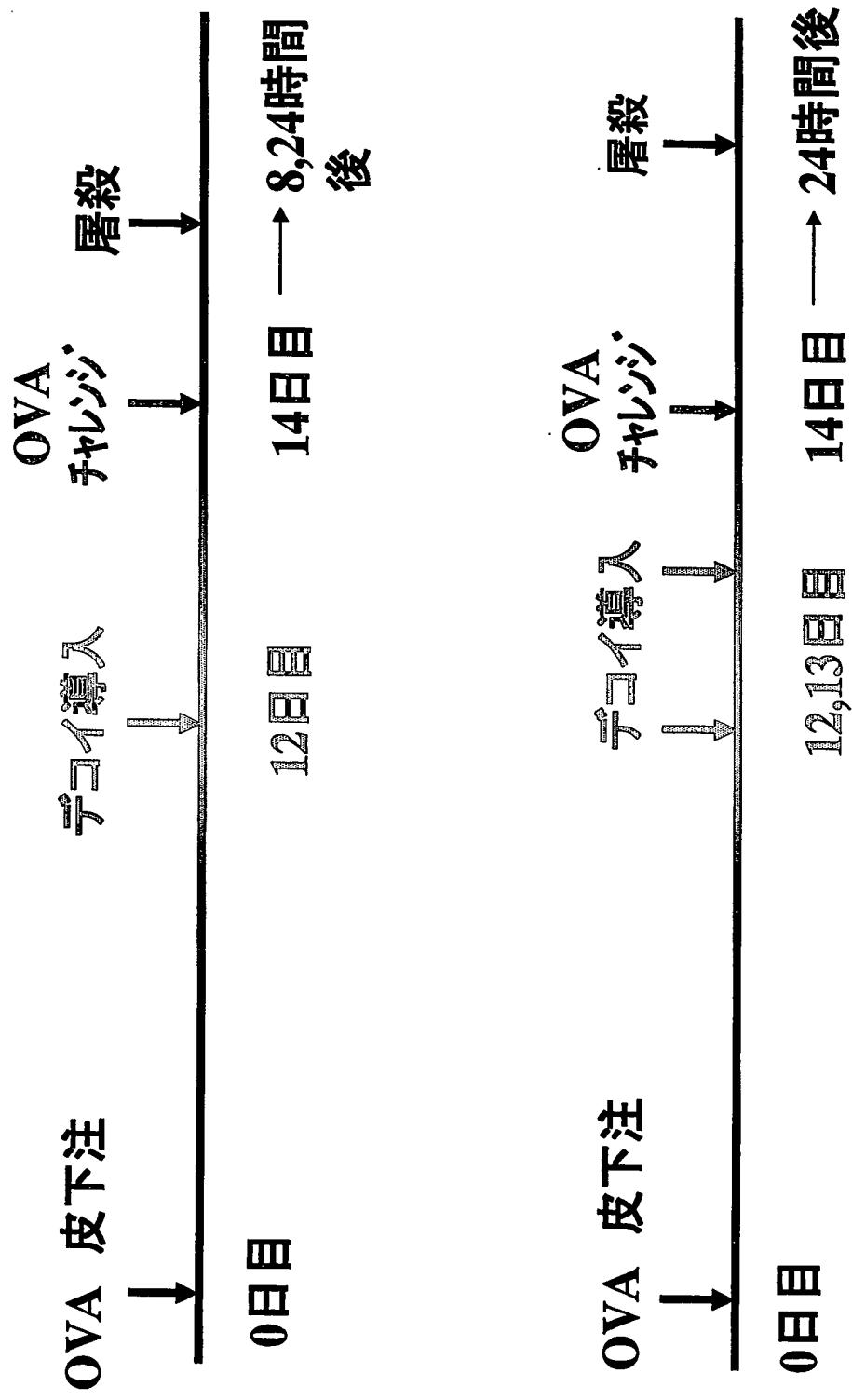
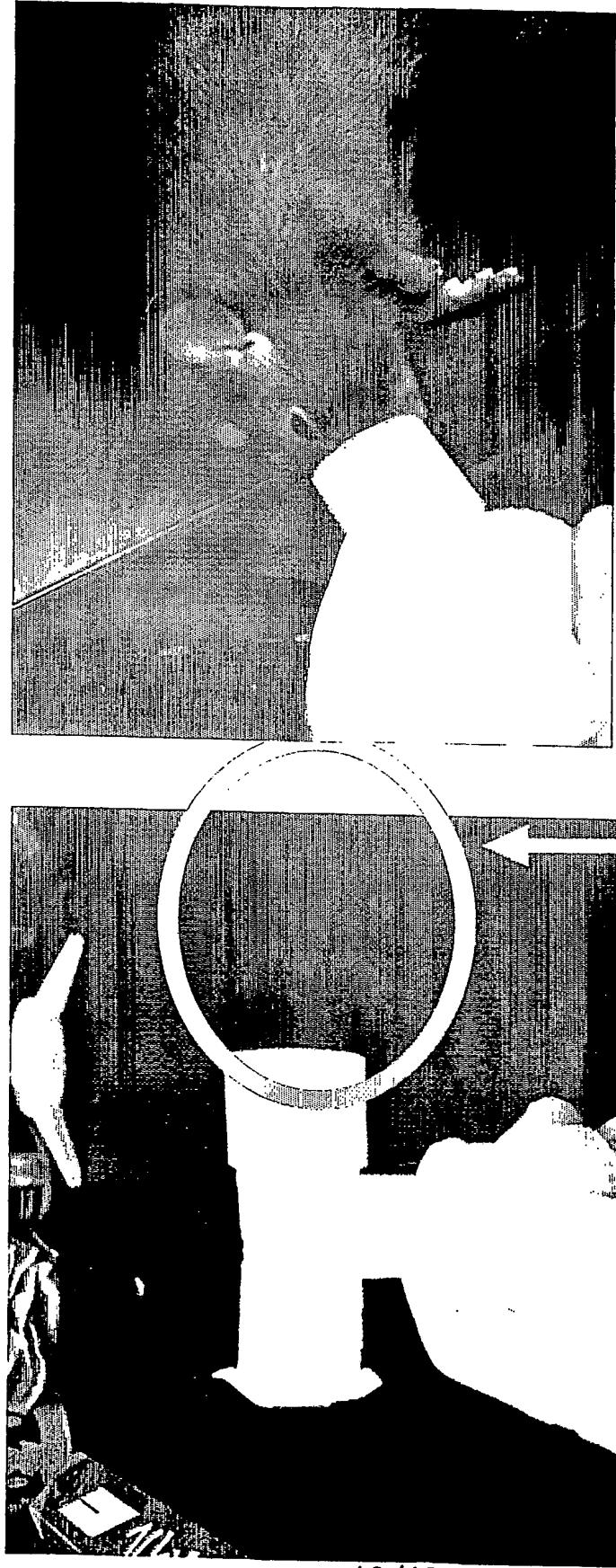


図11B

ラットのOVAおよびデコイ吸入

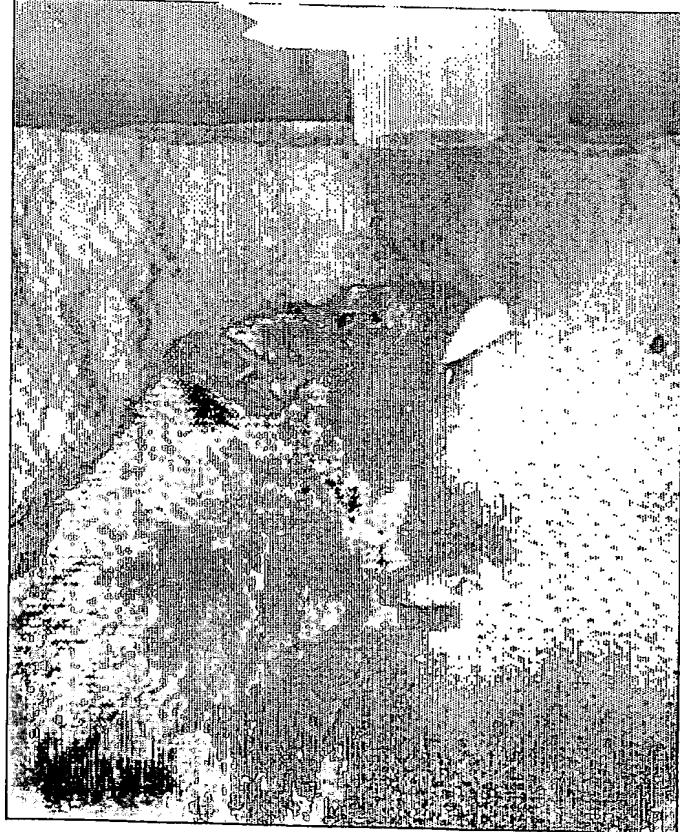


12/19

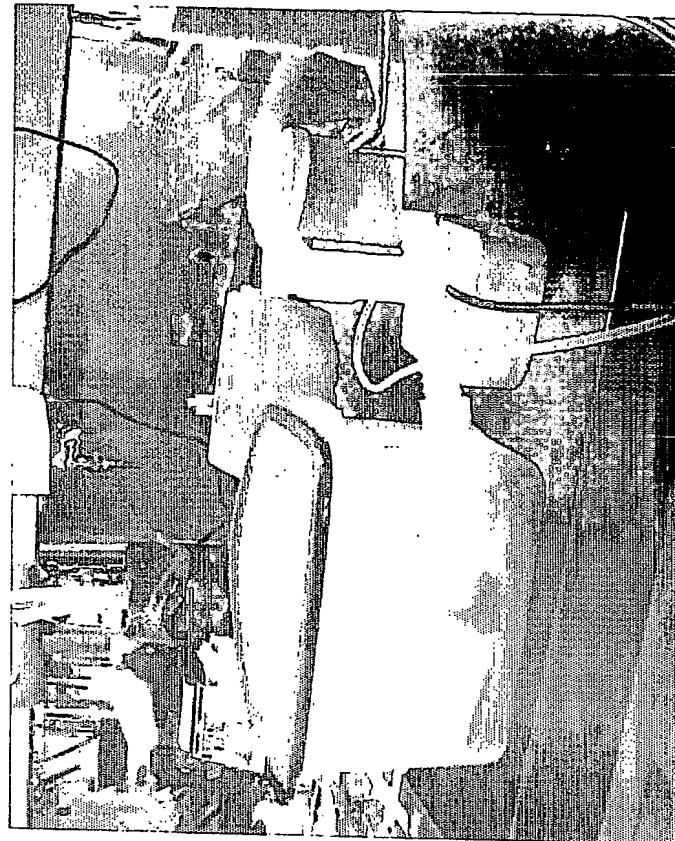
デコイ : 2mg/4ml
OVA : 5%wt. × 5分
O₂ 流 7-8 l/min
経鼻吸入

図11C

ラットへのデコイ吸入(2)



13/19



Decoy: 2 or 4mg/20ml x 2
気流 7-8 l/分, 60分
自然吸気

エラスター接管

12A

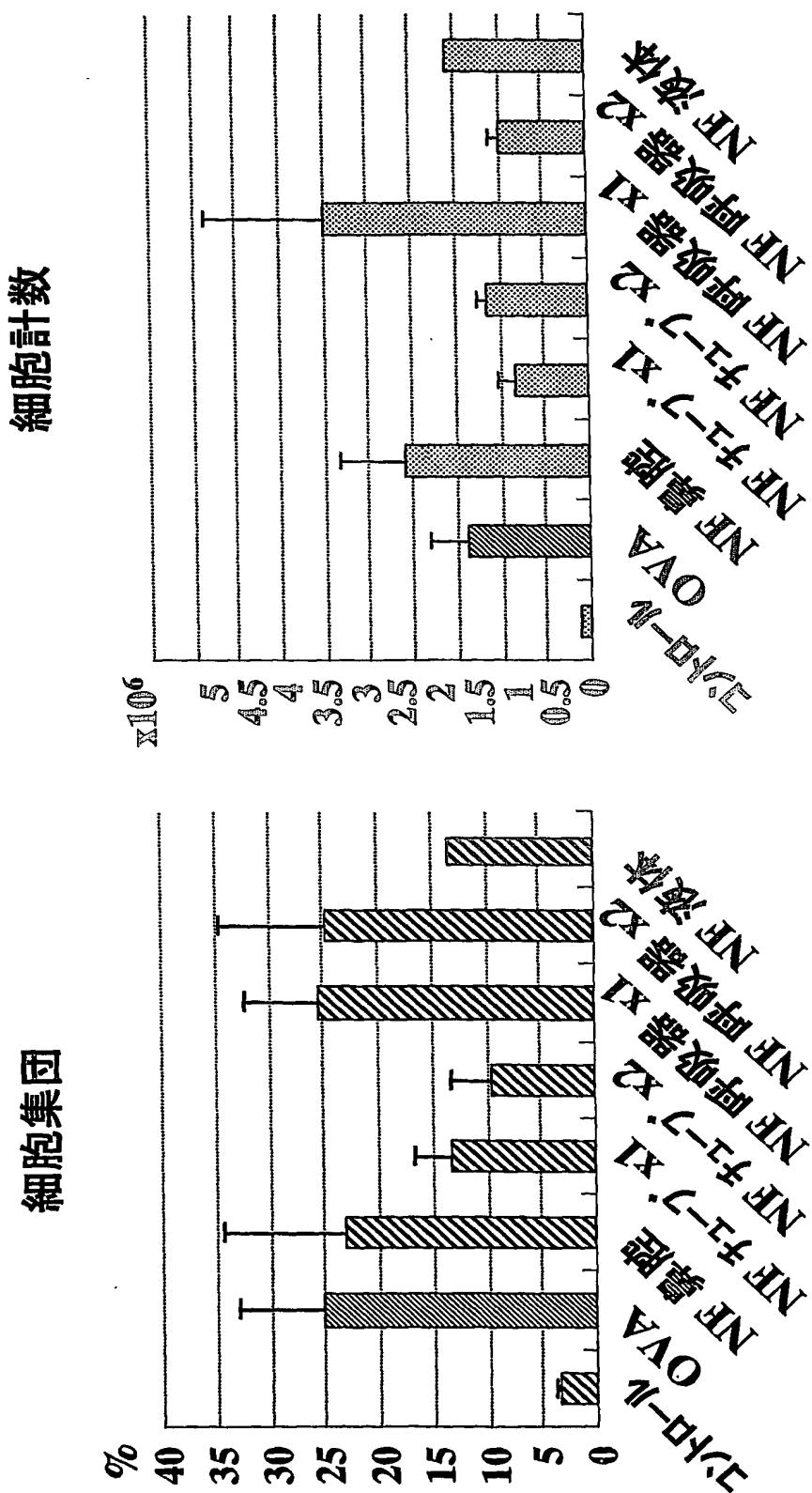
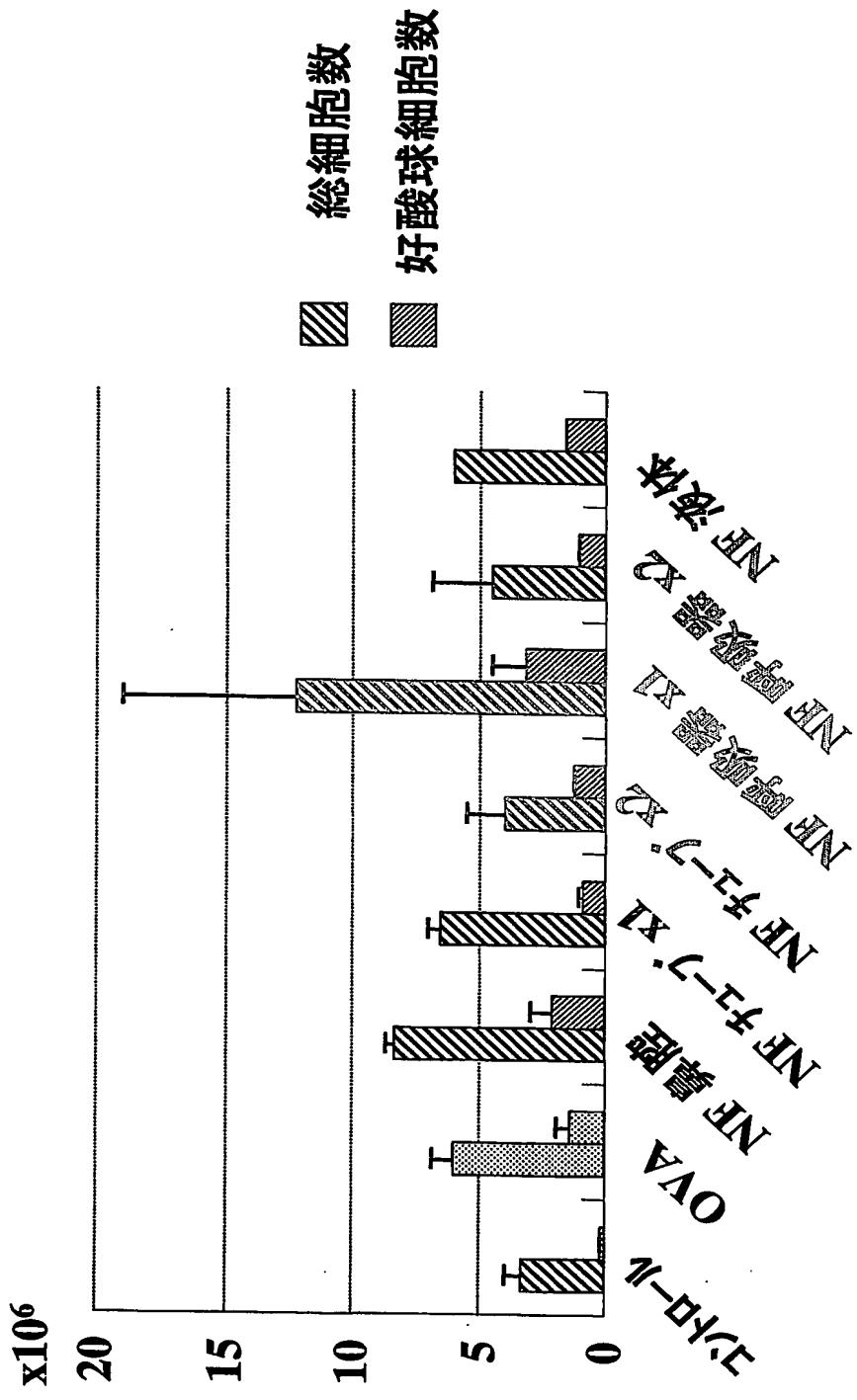


図12B BAL 細胞計数



BAL 好酸球 %

$p < 0.01$

図12C

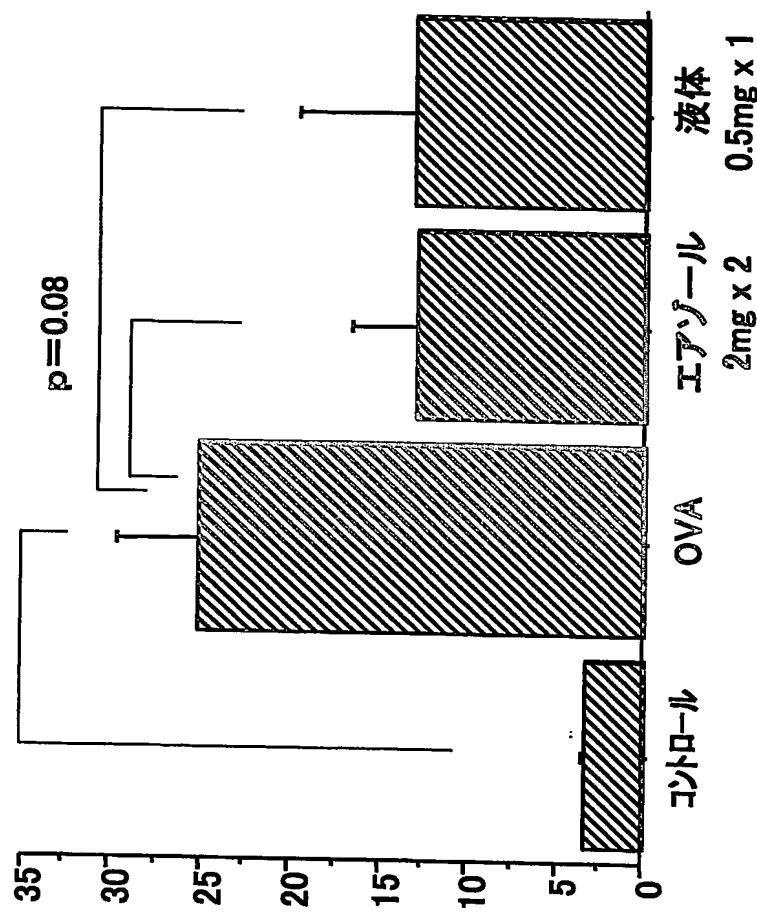


図13A BAL 好酸球細胞計数

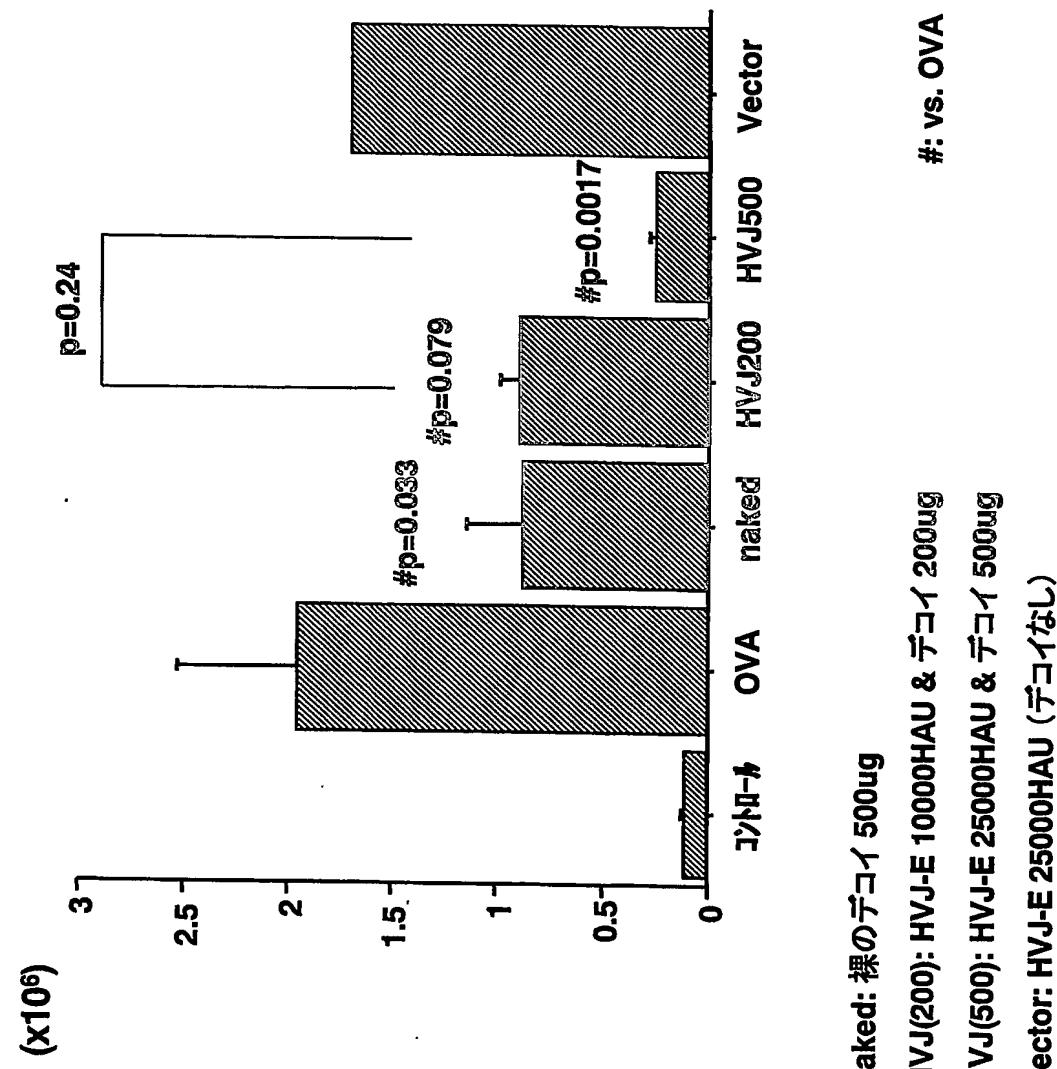


図13B

BAL 好酸球 %

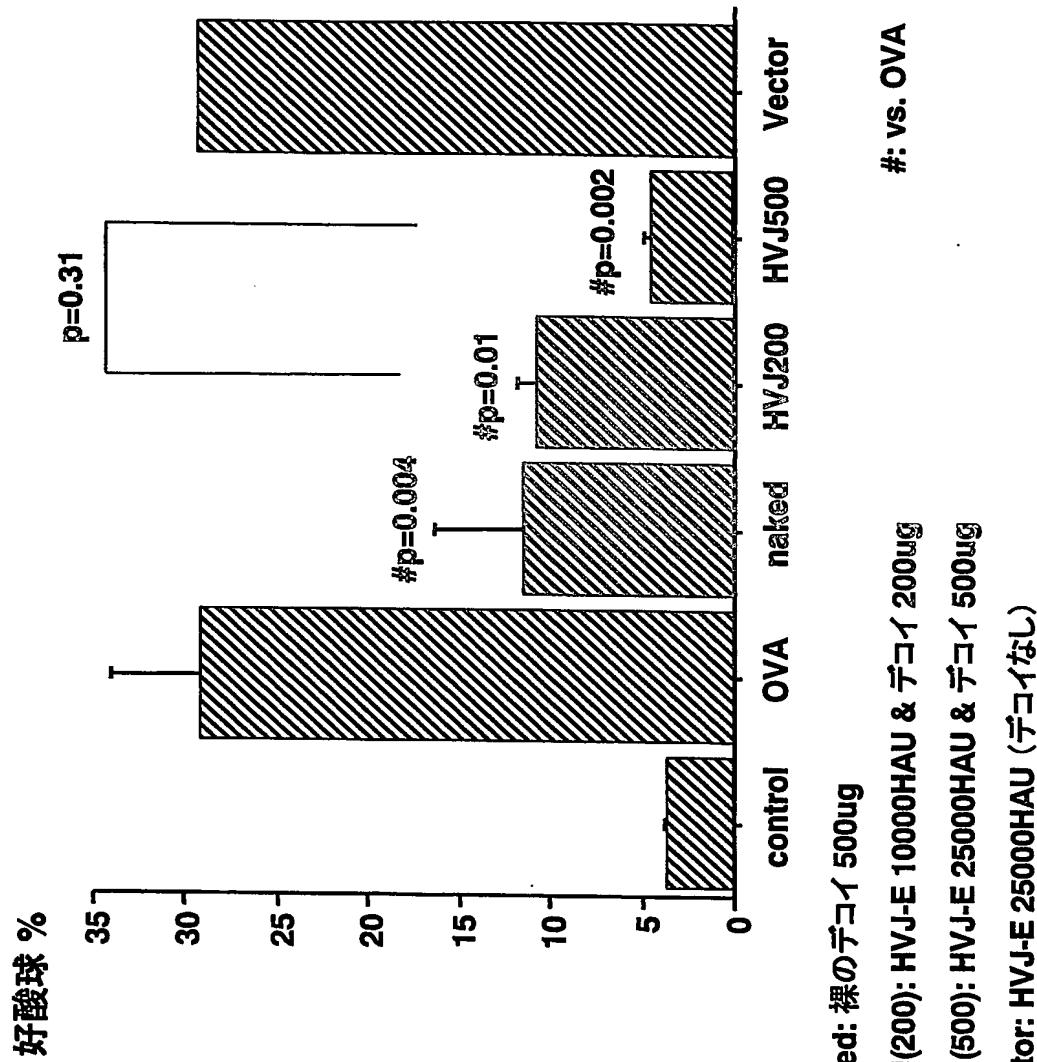
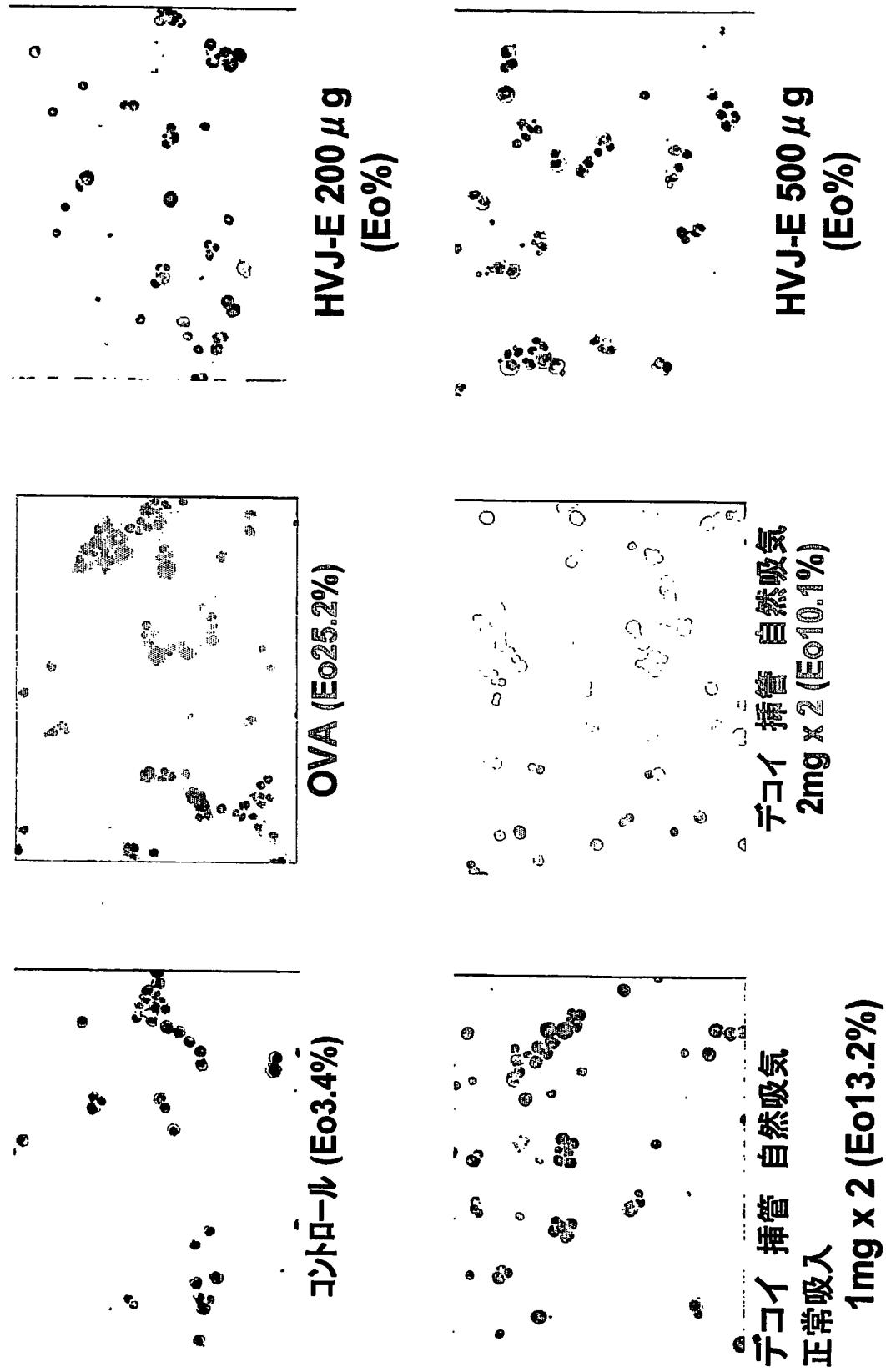


図14



SEQUENCE LISTING

<110> AngesMG Inc.

<120> Pharmaceutical composition containing a decoy and method for use

<130> AN011PCT

<160> 19

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> NF-kappaB Decoy

<400> 1

ccttgaaggg atttccctcc

20

<210> 2

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> NF-kappaB Scramble Decoy

<400> 2

ttgccgtacc tgacttagcc

20

<210> 3

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Ets Decoy.

<400> 3

aattcacccgg aagtattcga

20

<210> 4

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Ets Scramble Decoy

<400> 4

ggaatacacatc gacctgttaa

20

<210> 5

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Double Decoy

<400> 5

accggaagta tgagggattt ccctcc

26

<210> 6
<211> 26
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Double Scramble Decoy

<400> 6
gcaaccctt agtttctgag agacga

26

<210> 7
<211> 28
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> STAT-1 Decoy

<400> 7
gatcttaggga tttccgggaa atgaagct

28

<210> 8
<211> 16
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> GATA-3 Decoy

<400> 8
agcttgagat agagct

16

<210> 9
<211> 28
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> STAT-6 Decoy

<400> 9
gatcaagacc ttttcccaag aaatctat

28

<210> 10
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> AP-1 Decoy

<400> 10
agcttgtgag tcagaagct

19

<210> 11
<211> 8
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> CRE Decoy Sequence

<400> 11
tgacgtca

8

4/7

<210> 12
<211> 13
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> E2F Decoy Sequence

<400> 12
ctagatttcc cgcc

13

<210> 13
<211> 9
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> NF-kappaB Consensus Sequence

<400> 13
gggrhyyhc

9

<210> 14
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> NF-kappaB Decoy

<400> 14
ggagggaaat cccttcaagg

20

5
17

<210> 15
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> NF-kappaB Scramble Decoy

<400> 15
ggctaa~~gtca~~ ggtacggcaa

20

<210> 16
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Ets Decoy

<400> 16
ttaa~~gtggcc~~ tt~~cataagct~~

20

<210> 17
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Ets Scramble Decoy

<400> 17
ccttat~~gttag~~ ctggacaatt

20

<210> 18
<211> 26
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Double Decoy

<400> 18
tggccttcat cttccctaaa gggagg

26

<210> 19
<211> 26
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> Double Scramble Decoy

<400> 19
cgttggggaa tccaagactc tctgct

26